

# Artigo de Revisão

## Revision Article

Paula Alexandra Videira<sup>1</sup>  
Luís Miguel Borrego<sup>2</sup>  
Hélder Trindade<sup>3</sup>

### Os factores genéticos da asma

#### *Asthma genetic factors*

Recebido para publicação/*received for publication*: 06.06.28

Aceite para publicação/*accepted for publication*: 06.07.30

#### Resumo

A asma brônquica é uma doença inflamatória crónica das vias aéreas, de prevalência crescente, particularmente na infância, sendo considerado um importante problema de saúde pública.

É reconhecidamente uma doença de transmissão familiar, sendo um desafio a descrição e potencial identificação dos genes envolvidos na sua génese.

Pretende-se com o presente artigo de revisão explicitar exaustivamente os genes associados a esta patologia, bem como esclarecer os métodos laboratoriais que permitem a sua identificação.

**Rev Port Pneumol 2006; XII (6): 683-708**

**Palavras-chave:** Asma, susceptibilidade genética, *genome wide screen*, estudos de associação, farmacogenética.

#### Abstract

Asthma is a chronic inflammatory airways disease, with a rising prevalence, particularly in childhood, and is considered an important Public Health problem.

It's familial transmission is recognised, while the description and identification of the genes implicated in this disease are a challenge.

In this revision paper the authors give a comprehensive explanation of the associated genes as well as the laboratorial methods that allow their identification.

**Rev Port Pneumol 2006; XII (6): 683-708**

**Key-words:** Asthma, genetic susceptibility, genome wide screen, association studies, pharmacogenetics.

<sup>1</sup> Assistente Convidada Doutorada,

<sup>2</sup> Assistente Convidado. Assistente Hospitalar de Imunoalergologia do Hospital Dona Estefânia

<sup>3</sup> Professor Associado Convidado com Agregação

Faculdade de Ciências Médicas, Departamento de Imunologia  
Universidade Nova de Lisboa

Campo dos Mártires da Pátria, n.º 130  
1169-056 Lisboa  
Tel: 351-218803045/ 218853000  
Fax: 218853480

**A expressão fenotípica da asma brônquica depende da interacção entre factores ambientais e da predisposição genética de um determinado indivíduo**

## Introdução

Nos últimos anos, a prevalência e a gravidade da asma brônquica têm vindo a aumentar, particularmente em idade pediátrica. De tal modo que, neste momento, é considerada um importante problema de saúde pública<sup>1,2</sup>. A asma é uma doença inflamatória crónica obstrutiva das vias aéreas, de etiologia multifactorial, e constitui a principal causa de internamento em crianças com doença crónica<sup>1,2</sup>.

A expressão fenotípica da asma brônquica depende da interacção entre factores ambientais e da predisposição genética de um determinado indivíduo<sup>3,4</sup>. Um dos objectivos importantes no estudo da asma é compreender essa predisposição genética. O conhecimento actual da genética inerente à asma deve-se essencialmente aos diversos estudos que têm sido realizados em famílias ou comunidades isoladas. Como exemplo temos a comunidade da ilha de Tristão da Cunha, onde a grande prevalência da asma foi atribuída a três indivíduos entre os colonos originais desta comunidade<sup>5</sup>. Em termos gerais estima-se que a asma tenha uma hereditabilidade, isto é, proporção de variação devida a factores genéticos, de 35% a 75%<sup>4</sup>.

Um conhecimento claro do complexo envolvimento dos factores genéticos e ambientais na asma abre indubitavelmente expectativas a novas formas de tratamento. Nos últimos anos, verificou-se um investimento considerável no estudo e compreensão dos factores genéticos inerentes à asma porém, a sua natureza multigénica tem dificultado o progresso. Já foram identificadas várias regiões cromossómicas e variantes genéticas em genes candidatos, mas na maioria das vezes os resultados divergem quando reproduzidos, havendo diferenças significativas entre diferentes populações<sup>6,7</sup>. Apesar de muitos ge-

nes terem sido identificados como de “susceptibilidade à asma” (Anexo I), como pode ser ilustrado pelo considerável número de revisões bibliográficas nesta matéria, ainda não existem dados que permitam prever com precisão o desenvolvimento ou não da doença num determinado indivíduo.

A dissecação genética da asma é um autêntico desafio, uma vez que se trata de uma doença complexa, que apresenta características como: i) multifactorial, sendo causada por factores genéticos e ambientais; ii) heterogenicidade, em que vários genes contribuem para a sua susceptibilidade; iii) penetrância reduzida: indivíduos não afectados podem ter genótipo de susceptibilidade; iv) existência de fenócópias: um fenótipo partilhado por indivíduos aparentados pode ser causado por factores meramente ambientais; v) expressão variável dos fenótipos: indivíduos com a mesma susceptibilidade genética podem ter diferentes manifestações da doença; vi) interacções gene-gene: diversos genes de susceptibilidade poderão interagir de forma complexa.

Este trabalho pretende ser uma revisão do conhecimento actual da genética da asma, providenciando material de partida para futuros estudos, bem como elucidar alguns aspectos das metodologias envolvidas para identificação de genes de susceptibilidade à asma. No Quadro I encontra-se um glossário com alguns termos genéticos utilizados em trabalhos de identificação de genes de susceptibilidade.

## Métodos de identificação de genes de susceptibilidade

A identificação de genes de susceptibilidade pode ser obtida, de um modo geral, por dois métodos: Pesquisa extensa do genoma, designados por *genome wide screen* (GWS) ou pesquisa de genes candidatos (Fig. 1).

**A dissecação genética da asma é um autêntico desafio, uma vez que se trata de uma doença complexa**

## OS FACTORES GENÉTICOS DA ASMA

Paula Alexandra Videira, Luís Miguel Borrego, Hélder Trindade

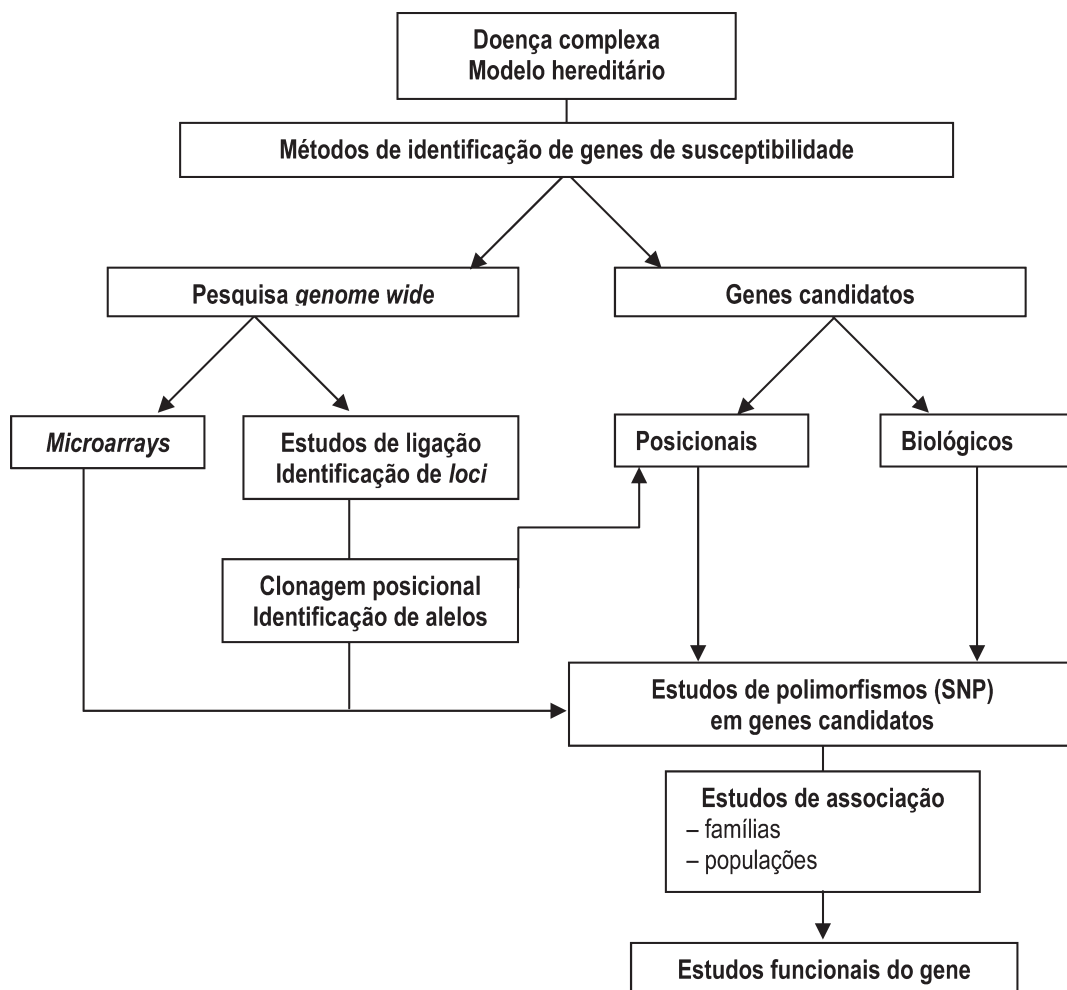


Fig. 1 – Esquema representativo da metodologia utilizada para a identificação de genes envolvidos em doenças complexas

### 1) *Genome wide screen* (GWS)

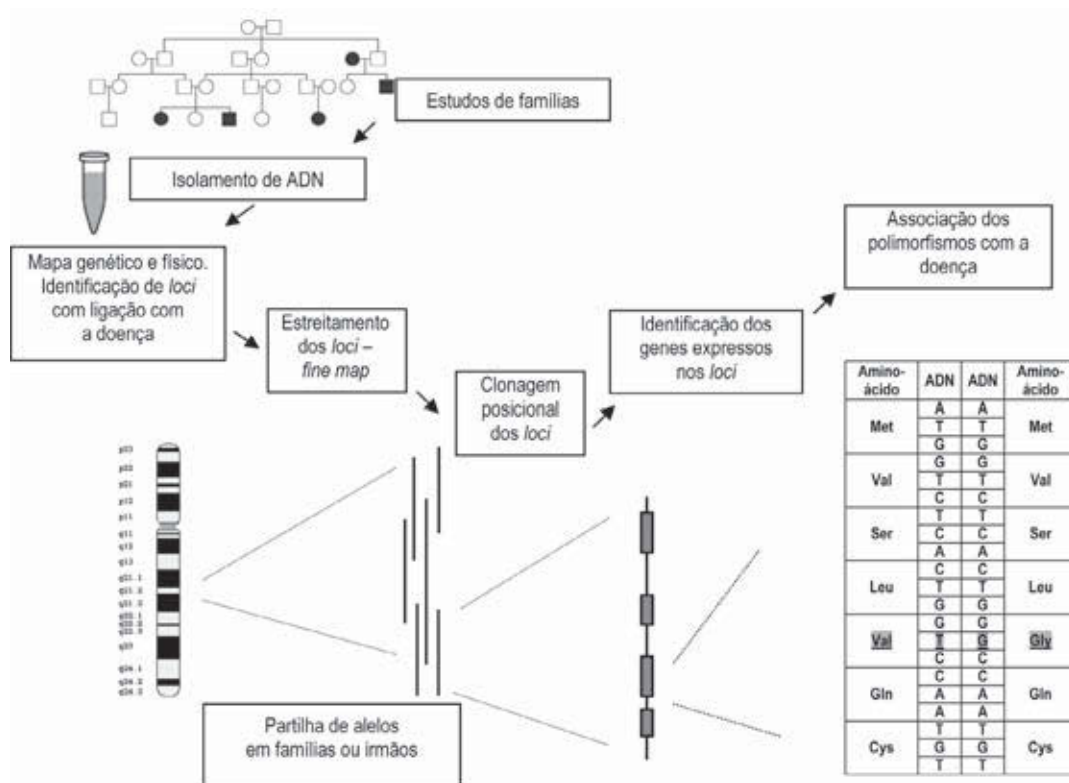
O método de GWS permite a identificação de qualquer gene ou sequência reguladora, sem que haja um conhecimento prévio da sua função, ou seja, o genoma é analisado sem uma hipótese inicial de genes envolvidos na doença. Dentro deste método é possível efectuar estudos de ligação ou *microarrays*.

1.1) Os estudos de ligação seguidos de clonagem posicional (*positional cloning*) (Fig. 2)

permitem o mapeamento e a identificação de genes com base na co-segregação de marcadores genéticos, isto é, permitem identificar regiões genéticas partilhadas entre famílias ou irmãos afectados (ex: asmáticos). As etapas envolvidas nestes estudos encontram-se descritas na Fig. 2. Os resultados são expressos como *LOD score* (logaritmo das probabilidades), estimado através do método desenvolvido por Morton N E<sup>8</sup> para calcular a probabilidade de um determinado fe-

## OS FACTORES GENÉTICOS DA ASMA

Paula Alexandra Videira, Luís Miguel Borrego, Helder Trindade



**Fig. 2** – Passos envolvidos num estudo de ligação seguido de clonagem posicional, utilizado para a pesquisa de genes envolvidos com a manifestação de doença

nótipo ter sido originado ao acaso ou por ligação genética.

A publicação do projecto do genoma humano em 2001, pelo *International Human Genome Sequencing Consortium*, disponível em *Ensembl* (Anexo II), e a posterior finalização da sua anotação, em 2003, tem sido um grande contributo para o mapeamento de genes de susceptibilidade a várias doenças, não só porque revela novas sequências genéticas, mas também porque permite a utilização de novos marcadores genéticos a serem utilizados na identificação (Quadro I). Hoje em dia existem inúmeros programas informáticos de apoio aos estudos de associação e de ligação, muitos deles disponíveis na *World Wide Web* (Anexo II).

1.2) Os *microarrays* constituem outra metodologia de GWS (Fig. 1), alternativa e recente, que possibilita o estudo da expressão de um grande número de genes em simultâneo. Neste método, em vez de se estudar o gene em si, analisa-se o ARN de uma determinada amostra, permitindo o estudo da expressão de um determinado gene num determinado tecido ou célula e em determinadas condições. O *microarray*, para além de ser rápido, tem a vantagem de permitir a análise de milhares de genes em simultâneo e, desta forma, analisar a coordenação entre os vários genes envolvidos na doença, embora alguns autores considerem ser um método ainda a otimizar e dispendioso.

## OS FACTORES GENÉTICOS DA ASMA

Paula Alexandra Videira, Luís Miguel Borrego, Hélder Trindade

### 2) Genes candidatos

A estratégia de genes candidatos concentra-se no estudo de variantes genéticas em genes distintos. Os genes a estudar são seleccionados se a sua função biológica sugerir que possam estar envolvidos na doença (candidatos biológicos) ou caso pertençam a uma região previamente identificada por clonagem posicional (candidatos posicionais) (Fig. 1). Podem ser casos-controlo, isto é, casos em populações (sem relação familiar), ou casos

familiares, em que é analisada a transmissão de determinados marcadores genéticos de pais para filhos (teste de desequilíbrio de transmissão). Assim, para um gene seleccionado são avaliadas as associações entre um ou mais polimorfismos e o fenótipo da doença.

Os polimorfismos nucleótidos singulares (SNP) são os mais comuns e podem ser detectados por diversas técnicas: Reacção em cadeia da polimerase (PCR), restrição do ADN ou por sequenciação (Quadro I).

**Quadro I** – Termos vulgarmente utilizados na identificação de genes de susceptibilidade

|   |  |
|---|--|
| Alelos  | Formas alternativas do mesmo gene. Um só indivíduo, uma vez que possui duas cópias do mesmo gene nos cromossomas homólogos, pode ser portador de alelos diferentes. Frequentemente, a designação de alelo refere-se à posição do polimorfismo no gene.   |
| Clonagem de posição<br><i>Positional cloning</i>          | Identificação e clonagem de um gene com base na sua localização cromossómica.  |
| Desequilíbrio de ligação<br><i>Linkage disequilibrium</i> | Tendência para alelos específicos num determinado <i>locus</i> estarem associados com maior frequência a alelos específicos em outro <i>locus</i> . Ex: Alelos próximos de um local de mutação causador de doença serão herdados comumente por todos os indivíduos portadores da mutação.                                  |
| Estudos de associação<br><i>Association studies</i>       | Estudo desenhado para testar se um determinado alelo ocorre com mais frequência em determinados casos relativamente a um controlo.   |
| Estudos de ligação,<br><i>Linkage analysis</i>            | Método de pesquisa de transmissão genética entre gerações, para mapear <i>loci</i> co-segregados, isto é, herdados em conjunto.  |
| Ligação genética<br><i>Linkage</i>                        | Tendência de dois ou mais <i>loci</i> serem segregados juntos durante a meiose. Devido ao processo do <i>crossing-over</i> , durante a segregação dos cromossomas os <i>loci</i> separam-se ao acaso, porém <i>loci</i> próximos poderão ser herdados em bloco, ou seja, ligados.  |
| <i>Locus</i> (plural <i>loci</i> )                        | Posição do gene (ou outra sequência) no cromossoma.  |
| Mapa genético<br><i>Genetic map</i>                       | Posição relativa dos genes e marcadores, isto é, localização uns em relação aos outros. Comparativamente, o mapa físico indica a posição actual ao longo do cromossoma. <i>Fine map</i> diz respeito à metodologia de mapeamento mais minuciosa, isto é, com mais marcadores, geralmente de uma região bastante confinada. |

(Continua)

**Quadro I** – Termos vulgarmente utilizados na identificação de genes de susceptibilidade (Cont.)

|  |  |
|--|--|
| Marcadores genéticos<br><i>Genetic markers</i>                                   | Característica que identifica uma região única do genoma. Geralmente, é uma alteração (polimorfismo) ou mutação numa sequência de ADN. No mapeamento genético têm que ser suficientemente polimórficos para distinguir indivíduos. A descoberta da existência de regiões repetidas de ADN polimórficas ( <i>tandem repeats</i> ) foi um enorme contributo para o mapeamento genético, que passaram a constituir os marcadores de eleição . |
| <i>Microarray</i>  | Ferramenta de análise de expressão genética que consiste em pequenos suportes contendo sequências de ADN de milhares de genes. A expressão genética é analisada com base na hibridação ARN-ADN e através de programas computacionais adequados.  |
| Microsatélites<br><i>Microsatellite, short tandem repeats, STR</i>               | Pequenas repetições ao acaso (STR) de unidades de ADN, 2 a 4 pares de base de comprimento, encontradas em diferentes <i>loci</i> no genoma, incluindo regiões codificantes (genes) e não codificantes. São altamente polimórficos, pois são susceptíveis de variação ao nível do número de repetições.   |
| Reacção em cadeia da polimerase<br>PCR   | Técnica utilizada para amplificação (aumento exponencial) de um determinado segmento de ADN a partir de uma amostra de ADN.  |
| Polimorfismos  | Variação do ADN na qual cada sequência possível está presente em pelo menos 1% da população. Como exemplo temos polimorfismos nucleótido singular e os microsatélites.   |
| Polimorfismos nucleótido singular<br><i>Single nucleotide Polymorphisms, SNP</i> | Substituições de pares de base, bialélicas.  |
| Teste de desequilíbrio de transmissão  | Análise efectuada a indivíduos doentes e respectivos pais, com o intuito de demonstrar se determinados marcadores genéticos são transmitidos mais frequentemente do que o esperado. Uma transmissão acima do esperado pressupõe uma ligação do marcador à doença.  |

A selecção dos genes e dos polimorfismos a analisar é feita por pesquisa bibliográfica e em bases de dados públicas, como o *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) (Anexo II). Porém, a selecção de SNP para estudo pode tornar-se extremamente difícil, não só pela escolha dos genes a estudar, como no caso de doenças multigénicas, como a asma, mas também por ser difícil prever o impacto funcional de um SNP. De facto, na análise de um resultado, outros factores têm de ser considerados,

tais como a existência de outras alterações no gene ou nas suas regiões não codificantes (promotor, regiões não traduzidas, UTR e intrões) e o facto de cada alelo (variante de um gene) poder ser expresso de forma distinta. É fundamental uma correcta interpretação dos estudos de associação entre um alelo e uma doença. Muitas das associações negativas com genes candidatos não chegam a ser publicadas e, em caso de associação positiva, podem ser dadas diferentes explicações<sup>9</sup>:



## OS FACTORES GENÉTICOS DA ASMA

Paula Alexandra Videira, Luís Miguel Borrego, Hélder Trindade

- O alelo afecta a função do gene, por alteração da sequência de aminoácidos da proteína codificada, alteração do *splicing* (processamento do ARN), instabilidade do ARN ou da proteína e, portanto, afecta directamente o risco de desenvolver a doença.
- O alelo está em desequilíbrio de ligação com o verdadeiro alelo causador da doença, mas por si não afecta o risco de doença.
- A associação é um falso positivo, o que ocorre com mais frequência em estudos com poucos casos (como é na maioria das vezes), com múltiplas comparações (SNP, genes e/ou fenótipos) ou fruto de erro de genotipagem<sup>10</sup>.

### Genome wide screens para a susceptibilidade à asma

Nos últimos anos desenvolveram-se diversos trabalhos no sentido de se identificarem marcadores genéticos para a susceptibilidade à asma através de GWS. No entanto, sendo a asma uma doença multifactorial e complexa, esta identificação tornou-se uma tarefa difícil e controversa. Os resultados obtidos dos GWS, relativos à susceptibilidade à asma, através de estudos de ligação ou *microarrays*, encontram-se enumerados de seguida.

### Estudos de ligação seguidos de clonagem posicional

Foram realizadas 17 *genome wide screens* (GWS) para estudos de ligação de regiões genéticas com a asma (Quadro II), bem como com outros fenótipos associados à frequência de asma (atopia, IgE sérica e hipersusceptibilidade brônquica), descritos nas bases de dados *Online Mendelian Inheritance in Man* (OMIM) e *Asthma & Allergy Gene Database* (Anexo II). Os resultados variam substancialmente devido não só ao carácter multigénico da asma como às diferenças nos tipos de estudos (po-

pulação, dimensão de amostras, métodos de análise) (Quadro II). A reprodutibilidade dos resultados e a aplicação dos critérios recomendados aos estudos de ligação<sup>11</sup> são factores que têm vindo a ser revistos e avaliados em diversos estudos<sup>12-14</sup>. À partida, as regiões confirmadas em vários estudos e com resultados consistentes localizam-se nos cromossomas 2q, 5q, 6p, 12q e 13q.

Inúmeros trabalhos realizados a partir destas pesquisas no genoma, no sentido de estreitar as regiões identificadas, permitiram identificar nove genes candidatos posicionais associados à asma (Anexo I).

Na região do *cluster* da interleucina-1 (IL-1) no cromossoma 2q14, foram identificados dois candidatos posicionais, *IL-1RN* e *DPP10*<sup>15,16</sup>. Num estudo foram identificadas associações entre SNP de *IL-1RN*, que codifica um antagonista do receptor de IL-1, e a asma<sup>16</sup>, não tendo sido analisado o gene *DPP10*. Noutro estudo, com diferentes populações, Allen e col<sup>15</sup> reportam uma falta de associação entre *IL-1RN* e a asma, mas demonstram uma associação de SNP no gene *DPP10*, localizado também no *cluster* de IL-1. *DPP10* codifica uma dipeptidil-peptidase, que poderá inibir a actuação de citocinas, quimiocinas e leucotrienos, envolvidos no processo alérgico. Todavia, estes resultados são pouco conclusivos, dada a falta de reprodutibilidade.

O gene *SPINK5* (cromossoma 5q32), que codifica um presumível inibidor de proteases de serina, foi associado à asma num vasto estudo populacional<sup>17</sup>, porém não foi identificada qualquer associação num estudo posterior realizado com famílias com pelo menos um indivíduo afectado<sup>18</sup>.

O cromossoma 13q14, um dos *loci* que apresenta uma das maiores consistências de ligação com a asma, foi analisado com maior detalhe (*fine map*) e revelou uma associação,

## OS FACTORES GENÉTICOS DA ASMA

Paula Alexandra Videira, Luís Miguel Borrego, Hélder Trindade

**Quadro II** – Pesquisas *genome-wide* para ligação de *loci* de susceptibilidade com a asma e/ou fenótipos relacionados com a manifestação desta doença

| Estudos                                | Amostras  | <i>Loci</i> com ligação à asma e fenótipos relacionados (cromossomas)*   |
|--|---|--|
| Daniels e col 1996 <sup>118</sup>      | 172 irmãos de 80 famílias asmáticas, australianas                                   | 4q, 6, 7, 11q, <b>13q</b> e 16***  |
| CSGA 1997 <sup>**71</sup>              | 140 famílias americanas, asmáticas, de três grupos étnicos diferentes               | 5p15 e 17p11.1-q11.2 (afro-americanos); <b>5q23-31</b> , <b>6p21.3-23</b> , <b>12q14-24.2</b> , <b>13q21.3-qter</b> , 14q11.2-13, 11p15 e 19q13 (caucasianos); <b>12q14-24.2</b> , <b>2q33</b> e 21q21 (hispânicos)*** |
| Ober e col 1998 <sup>72</sup>          | 361 indivíduos asmáticos da população huterita                                      | <b>5q</b> , 12q, 19q e 21q***  |
| Hizawa e col 1998 <sup>119</sup>       | 45 famílias caucasianas e 53 afro-americanas  | <b>2q</b> , <b>6p</b> , 8p e <b>13q</b>  |
| Wjst e col 1999 <sup>120</sup>         | 156 irmãos asmáticos de 97 famílias alemãs  | 2p, 6p, 9, <b>12q</b>  |
| Dizier e col 2000 <sup>121</sup>       | 297 irmãos de 107 famílias asmáticas francesas                                      | 1p31, 11p13, <b>12q24</b> e 17q12-21.*** Confirmação por <i>fine-map</i> de 7q   |
| Yokouchi e col 2000 <sup>122</sup>     | 197 irmãos afectados de 47 famílias japonesas                                       | 4p35, <b>5q31-q33</b> , 6p22-p21.3, <b>12q21-q23</b> , <b>13q11</b> e <b>13q14.1-q14.3</b>   |
| Ober e col 2000 <sup>123</sup>         | 693 indivíduos da população huterita, com parentesco até à 15. <sup>a</sup> geração | Confirmação da ligação dos <i>loci</i> do estudo anterior <sup>72</sup> e inclusão dos <i>loci</i> 5p, <b>5q</b> , 8p, 14q e 16q   |
| Xu e col 2001 <sup>34</sup>            | 266 famílias americanas de três grupos étnicos diferentes**                         | <b>5q31</b> , 8p23, <b>12q22</b> e 15q13; <b>6p21</b> (caucasianos), 11q21 (afro-americanos) 1p32 (hispânicos)   |
| Xu e col 2001 <sup>124</sup>           | 2551 indivíduos de 533 famílias chinesas (9 fenótipos associados)                   | 2pter-2p25.2, 2p25.3, 10p15.3-10p15.1, 10p15.3, 22q12.3, 16p12.1, 19q12, 1q25.3-1q31.1, 1q31.1 e 4q21-q23  |
| Laitinen e col 2001 <sup>125</sup>     | 220 indivíduos em 86 famílias finlandesas   | 7p15-p14***  |
| Van Eerdewegh e col 2002 <sup>23</sup> | 460 famílias caucasianas  | 20p13  |
| Hakonarson e col 2002 <sup>126</sup>   | 596 indivíduos de 175 famílias islandesas   | 14q24  |
| Haagerup e col 2002 <sup>127</sup>     | 39, 45 e 57 pares de irmãos dinamarqueses   | 1p36, 3q21-q22, <b>5q31</b> e <b>6p24-p22</b> .***   |
| Postma e col 2005 <sup>128</sup>       | 200 famílias com familiares diagnosticados com asma em 1960s                        | <b>2q32</b> e <b>5q</b>  |
| Meyers e col 2005 <sup>70</sup>        | 200 famílias com um parente asmático, com ou sem exposição ao tabaco                | 3p e <b>5q</b>   |
| Wang e col 2005 <sup>129</sup>         | 190 crianças de Taiwan com asma alérgica ou não alérgica                            | <b>5q31.3</b> , 6q25 e 9p23 (alérgica) <b>6p25.1-6p24.3</b> , <b>6p25.1</b> , 8p12 e 19p13.1 (não alérgica)  |

\* As regiões que no geral apresentam replicações e resultados mais consistentes estão assinaladas a negrito. p= braço curto e q= braço longo dos cromossomas.

\*\* CSGA- Collaborative Study on the Genetics of Asthma – Estudo colaborativo suportado pelo National Heart, Lung and Blood Institute of the NIH (NHLBI/NIH).

\*\*\* Estudos que envolveram uma ou várias replicações.



## OS FACTORES GENÉTICOS DA ASMA

Paula Alexandra Videira, Luís Miguel Borrego, Hélder Trindade

com a ocorrência de asma, de alelos do gene **PHF11**, que codifica um presumível regulador de transcrição e do gene adjacente **SETDB2** de função desconhecida<sup>19</sup>. Também, nestes casos, não foi registado qualquer reprodução da associação.

O gene **GPRA** (cromossoma 7p14), que expressa um receptor cujo ligando se desconhece, também foi identificado como gene de susceptibilidade para a asma em três estudos distintos<sup>20-22</sup>. No entanto, os SNP identificados variam conforme a população analisada e, em alguns estudos, não foi possível detectar essa associação<sup>23,24</sup>.

**STAT6** (*Signal transducer and activator of transcription 6*) é um factor de transcrição, cuja activação específica é crítica para uma série de efeitos mediados por IL-4, incluindo a indução de células Th2, a resposta com IgE, a inflamação e a hipersusceptibilidade das vias aéreas<sup>25</sup>. Além disso, o respectivo gene localiza-se no cromossoma 12q13, uma região ligada à asma em diversos estudos de ligação em GWS (Quadro II), o que faz dele um candidato biológico e posicional para a susceptibilidade à asma. Num estudo com duas populações, foi estabelecida a associação de um SNP de **STAT6** com a asma em doentes japoneses, mas não em doentes britânicos<sup>26</sup>. Polimorfismos distintos, neste gene, têm vindo a ser associados com a asma<sup>27-29</sup>. Os estudos são por vezes contraditórios no que se refere aos mesmos polimorfismos<sup>30</sup>, contribuindo para esta complexidade as diferenças étnicas e clínicas. Aparentemente, existe uma melhor associação de variantes deste gene com eosinofilia e regulação dos níveis de IgE sérica do que com asma<sup>31,32</sup>.

O gene **ADAM33** (*A disintegrin and metalloprotease 33*) foi o primeiro candidato posicional identificado para a asma, por Van Eer-

dewegh e col<sup>33</sup>. Localiza-se no cromossoma 20p13, uma região que, em estudos anteriores, apresentava uma modesta evidência de ligação<sup>34</sup>.

Este é talvez o gene com mais estudos confirmados de associação à asma<sup>35-40</sup>, tendo sido referidos 17 SNP diferentes, neste gene, como envolvidos com a incidência da asma<sup>41</sup>. Contudo, existem também estudos onde não foi observada qualquer associação<sup>7,42</sup>. Num estudo extenso com 4 etnias americanas distintas, Howard e col<sup>43</sup> identificaram associações entre SNP de **ADAM33** e asma, para cada uma dessas etnias, sem que um só SNP pudesse ser associado no conjunto das populações. Com o objectivo de rever a metodologia utilizada e de ultrapassar a inconsistência dos resultados obtidos em estudos sobre associações de **ADAM33** à asma, foi recentemente elaborada uma meta-análise, que envolveu a maioria dos resultados publicados, bem como novos resultados, tendo-se demonstrado que, na verdade, dois SNP de **ADAM33**, eventualmente com efeito na actividade enzimática da proteína, estariam associados a um risco acrescido de asma<sup>40</sup>.

A proteína codificada por **ADAM33** é uma metaloproteinase, ancorada à superfície celular, com dois domínios funcionais: um de desintegrina, que promove a adesão a integrinas, e outro de metaloproteinase, que medeia a proteólise<sup>33</sup>. De função biológica pouco clara, a proteína **ADAM33** poderá conduzir à susceptibilidade à asma e à hipersusceptibilidade brônquica por alterar a libertação de citocinas ou por inactivar os receptores que transmitem a sua acção<sup>44</sup>.

**ADAM33** é expresso principalmente no músculo liso brônquico e por fibroblastos pulmonares, mas não por células do sistema

imune<sup>45</sup>, sugerindo um papel na remodelação das vias respiratórias<sup>41</sup>. De facto, estudos recentes de associação genética sugerem que este gene está também relacionado com a reparação, crescimento<sup>36,37</sup> e debilidade da função pulmonar durante a infância<sup>36,37,39</sup>. Tendo em conta os resultados de associação com a manifestação da asma, o papel de *ADAM33* nesta doença mantém-se controverso e é provável que seja complexo, envolvendo uma combinação de SNP, sendo imprescindível a obtenção de um maior número de dados e um estudo mais aprofundado do seu papel na asma.

O gene identificado mais recentemente por clonagem posicional como tendo associação com a asma foi o *HLA-G*<sup>46</sup>. A ligação do cromossoma 6p21, onde este gene se localiza, com a asma foi descrita em vários GWS (Quadro II). A evidência de associação de *HLA-G* com asma e hipersusceptibilidade brônquica foi observada num só estudo, em famílias de 4 populações distintas<sup>46</sup>. Neste estudo foi também observada uma associação diferencial de alelos de *HLA-G* com asma na criança no caso de as mães apresentarem hipersusceptibilidade brônquica<sup>46</sup>.

Ao contrário das moléculas de HLA clássicas, a molécula de *HLA-G* parece desempenhar uma função anti-inflamatória. É fortemente expressa em tecido da placenta, onde desempenha um papel imunorregulador, promovendo a tolerância da mãe ao feto alógeno<sup>47</sup>. Recentemente, tem-se vindo a verificar que existe também expressão de *HLA-G* em diversos tumores, células infectadas por vírus e determinadas doenças crónicas, o que leva a supor que esta molécula tenha uma função imunossupressora generalizada. Rizzo e col

observaram que a secreção de interleucina-10 em doentes com asma se encontra deficitária, podendo estar relacionado com a diminuição da expressão de *HLA-G* pelas células sanguíneas destes doentes<sup>48</sup>. A diminuição da expressão da molécula imunossupressora *HLA-G* nestes doentes pode assim contribuir para a persistência de inflamação crónica na asma.

### Microarrays na susceptibilidade à asma

A identificação de genes relacionados com a susceptibilidade à asma, através do estudo da expressão genética, por *microarrays*, revelou centenas de genes com expressão desigual em amostras diversas, como: eosinófilos humanos<sup>49</sup>, mucosa bronquiolar humana<sup>50</sup>, linfócitos T CD4<sup>+</sup> humanos<sup>51</sup>, epitélio nasal humano<sup>52</sup>, epitélio respiratório humano<sup>53</sup>, cultura de células epiteliais bronquiolares humanas<sup>54</sup>, tecido pulmonar de ratinhos<sup>55</sup> e de macacos<sup>56</sup> (Quadro III). Nestes trabalhos foram publicadas alterações na expressão de genes variados, envolvidos em diversos processos biológicos (Quadro III). Porém, os resultados variam com as amostras e, muitas vezes, os mais evidentes nem sempre se relacionam com os mecanismos descritos para a asma e envolvem, acima de tudo, alterações consequentes da asma, isto é, alterações dos tecidos como resposta à agressão (Quadro III)<sup>57</sup>.

O grande inconveniente destes estudos tem sido precisamente a interpretação dos resultados obtidos. Por vezes, é difícil relacionar as alterações obtidas de expressão de genes com características fisiopatológicas da asma, ou com os mediadores específicos envolvidos ou o tipo de células<sup>57-59</sup>. Existe igualmente uma grande di-

## OS FACTORES GENÉTICOS DA ASMA

Paula Alexandra Videira, Luís Miguel Borrego, Hélder Trindade

**Quadro III** – Processos biológicos que envolvem os genes relacionados com asma, identificados por *microarrays*

| Processo                           | Tipo de amostra  |
|------------------------------------|--|
| Inflamação eosinofílica            | Eosinófilos humanos <sup>49</sup><br>Mucosa bronquiolar humana <sup>50</sup>   |
| Mediadores quimiotáticos           | Tecido pulmonar de macacos <sup>56</sup>   |
| Adesão celular                     | Eosinófilos humanos <sup>49</sup><br>Linfócitos T CD4 <sup>+</sup> humanos <sup>51</sup>   |
| Remodelação do epitélio            | Tecido pulmonar de macacos <sup>56</sup>   |
| Stress oxidativo                   | Tecido pulmonar de macacos <sup>56</sup>   |
| Movimentos ciliares                | Epitélio nasal humano <sup>52</sup>  |
| Apresentação do alérgeno           | Epitélio respiratório humano <sup>53</sup>   |
| Inibição do alérgeno               | Células epiteliais bronquiolares humanas <sup>54</sup>   |
| Resposta T auxiliaadoras tipo 2    | Epitélio respiratório humano <sup>53</sup>   |
| Activação do complemento           | Tecido pulmonar de ratinhos <sup>55</sup>  |
| Resposta imune generalizada        | Epitélio nasal humano <sup>52</sup>  |
| Organização do citoesqueleto       | Linfócitos T CD4 <sup>+</sup> humanos <sup>51</sup>  |
| Crescimento e proliferação celular | Epitélio respiratório humano <sup>53</sup> ;<br>Linfócitos T CD4 <sup>+</sup> humanos <sup>51</sup> ;<br>Tecido pulmonar de ratinhos <sup>55</sup> |
| Activação de células T             | Linfócitos T CD4 <sup>+</sup> humanos <sup>51</sup>  |

ficuldade na comparação dos dados entre amostras diferentes ou mesmo entre laboratórios. Na maioria das vezes, apenas uma pequena parte dos dados obtidos acaba por ser usada e publicada, sendo provável que um número considerável de trabalhos iniciados com *microarrays* permaneça por publicar. É imprescindível que haja uma validação e confirmação dos

resultados obtidos com tecnologias complementares (PCR em tempo real, *northern blotting*, citometria de fluxo, etc.), para além do conhecimento funcional e biológico do gene (função, polimorfismos, interacção dos produtos com diversos processos, etc.).

Assim, mais do que uma ferramenta de identificação, os *microarrays* são uma ferramenta

promissora para confirmação de observações anteriores, podendo também providenciar novos indicadores sobre as vias metabólicas envolvidas na fisiopatologia da asma.

Recentemente, foi criado o Projecto *Global Allergy and Asthma European Network* (GA<sup>2</sup>LEN) com o propósito de estabelecer redes de excelência a nível europeu no campo da alergia e da asma. Entre os vários objectivos deste projecto, encontra-se a integração de um centro de dados para a troca rápida de informação entre os laboratórios envolvidos e o estabelecimento de critérios de apreciação relacionados com a investigação genómica. O potencial da tecnologia *micro-array* poderá então ser completamente explorado quando os dados forem partilhados e se encontrarem disponíveis entre a comunidade científica.

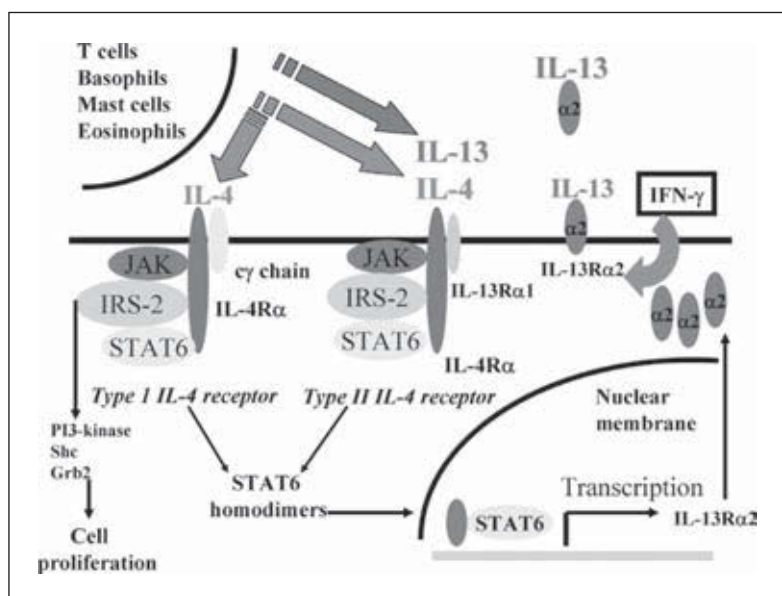
### Estudos de associação à asma com candidatos biológicos

Nestes estudos, são seleccionados genes, para os quais existe um conhecimento prévio de que a sua função biológica está implicada na fisiopatologia da asma. Está relativamente demonstrado que o processo inflamatório que se observa na asma é o resultado de uma resposta imune inapropriada a uma variedade de antígenos ubíquos ou inócuos, em indivíduos geneticamente susceptíveis, pelo que muitos estudos têm sido efectuados em genes de citocinas, na região do complexo *major* de histocompatibilidade (MHC) e nos genes de receptores de citocinas e de imunoglobulinas (Anexo I).

Os resultados dos estudos de associação destes candidatos biológicos com a asma variam consideravelmente, havendo, por vezes, resultados díspares entre diferentes populações, bem como ausência de confirmações posteriores, tornando-se difícil determinar se as associações publicadas são relevantes. No entanto, parece haver mais estudos e resultados com maior consistência com os genes envolvidos nas vias das interleucinas IL-4/IL-13 (Fig. 3).

Os genes da IL-4 e IL-13 encontram-se entre os candidatos biológicos associados, num número considerável de estudos, com a asma<sup>60-69</sup>. Estes genes localizam-se numa região do cromossoma 5q31 denominada “*cluster* das interleucinas”, por conter diversos genes envolvidos na resposta imune, incluindo interleucinas pró-inflamatórias (Quadro II). Esta região tem sido também identificada em vários estudos GWS como tendo ligação à asma<sup>70-72</sup>.

Nas doenças alérgicas existe uma resposta imune caracterizada pela produção das interleucinas IL-4 e IL-13. O conhecimento



**Fig. 3** – Via dos receptores e transdução de sinal das interleucinas IL-13/IL-4. Os genes envolvidos nesta via relacionados com a asma encontram-se referenciados a negrito no Anexo I. Figura extraída de Wills-Karp e col.<sup>73</sup>

## OS FACTORES GENÉTICOS DA ASMA

Paula Alexandra Videira, Luís Miguel Borrego, Hélder Trindade

actual sobre os papéis desempenhados por estas moléculas na patogénese da asma pode ser consultado em várias revisões da literatura<sup>73,74</sup>. Na Fig. 3 encontram-se ilustrados os receptores das citocinas IL-13/IL-4 e as vias de transdução de sinal induzidas por estas citocinas.

Os vários polimorfismos no gene *IL13* que têm sido associados à asma incluem polimorfismos na zona do promotor<sup>66,75</sup> e na zona codificante do gene<sup>67,68</sup>. Arima e col<sup>76</sup> demonstraram que um dos polimorfismos no exão 4 do gene resulta numa variante funcional com menor afinidade para o receptor IL-13R $\alpha$ 2 (Fig. 3). Por conseguinte, esta variante apresenta uma taxa de eliminação menos eficaz, o que se correlaciona com o facto de doentes asmáticos com este polimorfismo apresentarem níveis de IL-13 elevados<sup>76,77</sup>. Para além da associação com asma, foram identificados polimorfismos em *IL13* relacionados a níveis elevados de IgE sérica<sup>68</sup>.

Os polimorfismos identificados no gene *IL4* associados a asma localizam-se em regiões não codificantes e apresentam resultados menos consistentes, que os obtidos para o gene *IL13*<sup>78,79</sup>. Por outro lado, o receptor ILR-4R $\alpha$ , comum a estas duas interleucinas (Fig. 3), apresenta uma forte evidência de associação à asma<sup>62,63,80</sup>. Dois polimorfismos distintos localizados na região codificante deste gene, *IL4RA*, foram relacionados em ensaios experimentais *in vitro*, com a produção de IL-13<sup>81</sup> e com níveis elevados de IgE sérica<sup>82</sup>, embora estudos subsequentes de associação tenham mostrado resultados controversos<sup>83,84</sup>. O gene da subunidade  $\beta$  do receptor de alta afinidade para a IgE (*FCER1 $\beta$* ) apresenta também um número considerável de publicações associando variantes do gene com a asma<sup>60,85-87</sup>. Na mesma região do cromossoma, o gene

*GSTP1*, da enzima glutationa-S-transferase, possui também determinados polimorfismos associados à asma<sup>88-90</sup>. Esta proteína tem características antioxidantes, estando por isso envolvida no *stress* oxidativo, um componente-chave da inflamação. Interessante notar que alguns autores referiram uma associação maternal, mas não paternal de variantes dos genes *FCER1 $\beta$*  e *GSTP1*<sup>91,92</sup> com asma infantil, suportando a hipótese de hereditariedade maternal proposta por alguns autores relativamente à asma. Existem ainda dois outros genes, *GSTT1* e *GSTM1*, de glutationa-transferases, que podem estar ausentes do genótipo de um número considerável de indivíduos e cuja deleção ou heterozigotia pode ser um factor de risco acrescido para a asma<sup>93</sup>.

A região do MHC, no cromossoma 6p, para além de ter sido ligada à asma em vários GWS, tal como referido, contém muitos genes envolvidos na imunidade inata e adquirida (Anexo I). O antígeno leucocitário humano DRB1 (*HLA-DRB1*), o factor de necrose tumoral *TNF- $\alpha$*  e a  $\alpha$ -linfotoxina *LTA* são os candidatos biológicos desta região com maior número de associações com a asma<sup>94</sup>. Em alguns estudos verificou-se que, apesar de não existir associação com cada um destes genes individualmente, esta existe quando os genes *TNF- $\alpha$*  e DRB1<sup>95</sup> ou *TNF- $\alpha$*  e *LTA*<sup>94</sup> são considerados em conjunto.

As eotaxinas (eotaxina 1, eotaxina 2 e eotaxina 3) são outros candidatos biológicos com associação à asma, por serem potentes indutores da quimiotaxia de eosinófilos. Estes efeitos são mediados essencialmente pelo receptor CCR3, altamente expresso em eosinófilos, basófilos e linfócitos Th2, e, portanto, envolvidos na inflamação alérgica. Posto isto, vários autores investigaram estes



genes, tendo observado a associação entre determinados polimorfismos nesta família de genes e a susceptibilidade de doentes à asma<sup>96,97</sup>.

### Farmacogenética da asma

Na asma, a resposta aos fármacos varia consideravelmente de indivíduo para indivíduo. Segundo a revisão mais recente sobre os estudos de farmacogenética envolvidos no tratamento da asma, os factores genéticos são responsáveis por 60 a 80% da heterogeneidade da resposta<sup>98</sup>. Uma única mutação num gene pode influenciar drasticamente o metabolismo e a resposta ao fármaco. Por essa razão, inúmeros grupos de investigação têm-se debruçado sobre a identificação de variantes dos genes de proteínas que interferem com a actuação dos fármacos, com o objectivo de desenvolver novos fármacos, mais eficazes e, ao mesmo tempo, prever o tipo de resposta de um determinado indivíduo, evitando o risco de efeitos adversos.

De acordo com *The Global Initiative for Asthma* (GINA) (Anexo II), os fármacos utilizados no tratamento da asma podem dividir-se em dois grandes grupos: o grupo dos medicamentos aliviadores, utilizados no tratamento das crises agudas de asma, que proporcionam uma reversão da obstrução das vias aéreas e que incluem  $\beta_2$ -agonistas inalados de curta acção (salmeterol e terbutalina), anticolinérgicos inalados (brometo de ipratrópio e brometo de tiotrópio), teofilinas sistémicas de libertação curta (aminofilina) e os corticosteróides sistémicos; e o grupo dos medicamentos controladores, que, ao diminuir a inflamação das vias aéreas, permitem o controlo dos sintomas e a prevenção das exacerbações, estando indicados nos casos de asma persistente (ligeira, moderada e

grave) e que incluem os corticosteróides inalados (fluticasona e budesonido), os  $\beta_2$ -agonistas de longa acção (salmeterol e formoterol), os modificadores dos leucotrienos (montelucaste e zafirlucaste), o cromoglicato dissódico e as teofilinas de libertação lenta. Os princípios activos enumerados entre parêntesis correspondem aos exemplos de fármacos disponíveis no mercado nacional. Foram realizados estudos farmacogenéticos com os fármacos mais utilizados no tratamento da asma, ou seja, com os  $\beta_2$ -agonistas, os corticosteróides e os modificadores dos leucotrienos.

O mecanismo de acção dos  $\beta_2$ -agonistas encontra-se amplamente estudado; estes actuam principalmente nos receptores  $\beta$ -adrenérgicos, particularmente no receptor  $\beta_2$ -adrenérgico (ADBR2) do músculo liso brônquico<sup>99</sup>. O facto de os  $\beta_2$ -adrenérgicos serem muito utilizados nos doentes com asma proporcionou um grande interesse no estudo do gene *ADBR2*, no sentido de explicar a diversidade na resposta a este fármaco<sup>100</sup>. O gene *ADBR2* encontra-se no cromossoma 5q31-32 e é o gene candidato farmacogenético mais examinado na asma. Foram identificados 13 polimorfismos distintos nas regiões codificante e promotora do gene *ADBR2* com efeito relevante na resposta ao fármaco<sup>101</sup>. Verificou-se, *in vitro*, que quatro destes polimorfismos, 16-Arg/Gly, 27-Glu/Gln, 34-Val/Met e 164-Thr/Ile, resultavam em alterações funcionais da proteína<sup>101</sup>. Destes, a variante 16-Gly está associada a uma maior gravidade da asma, devido ao facto de promover, *in vitro*, a diminuição do número de receptores ADBR2<sup>102</sup>. Esta variante está de facto associada à existência de asma noturna, o que poderá explicar a diminuição do número de receptores ADBR2 verificada



## OS FACTORES GENÉTICOS DA ASMA

Paula Alexandra Videira, Luís Miguel Borrego, Hélder Trindade

apenas em asmáticos com sintomas nocturnos e ausente em indivíduos com asma não nocturna ou saudáveis<sup>102</sup>. Por outro lado, existem outros estudos que sugerem que os doentes com a variante 16-Gly terão uma menor tendência para desenvolver taquifilaxia, porque provavelmente o número de receptores ADBR2 não pode diminuir muito mais, apesar do uso continuado de  $\beta_2$ -agonistas<sup>103</sup>. No entanto, estão descritos vários estudos em que os doentes portadores desta variante nem sempre apresentam uma resposta inferior ao tratamento com  $\beta$ -agonistas<sup>104</sup>. Liggett formulou uma teoria que pretende interpretar este aparente paradoxo: os indivíduos 16-Gly homozigóticos possuem à partida um menor número de receptores, pelo que a resposta aos  $\beta$ -agonistas é mais notória em doentes não portadores desta variante, por possuírem mais receptores onde o fármaco pode actuar<sup>105</sup>.

O papel dos haplótipos de *ADBR2*, isto é, das combinações de SNP comuns neste gene, na função e resposta dos receptores ADBR2 aos  $\beta_2$ -agonistas, permanece pouco claro. A sua análise revelou que os SNP não são transmitidos independentemente uns dos outros e existe um número limitado de haplótipos em indivíduos de diferentes grupos étnicos<sup>106</sup>. Determinados haplótipos parecem ainda afectar diferentemente a função do receptor, pelo que os SNP não devem ser avaliados separadamente para associações com asma ou com diferenças na resposta aos fármacos.

Tal como acontece com os  $\beta_2$ -agonistas, a resposta terapêutica aos corticosteróides é heterogénea. Alguns doentes com asma que apresentam uma má resposta clínica ao tratamento com corticosteróides são classificados como tendo asma resistente aos corticosteróides. A

etiologia desta resistência é desconhecida, sabe-se que as células das vias aéreas de indivíduos com asma resistente aos corticosteróides expressam níveis elevados de IL-2 e de IL-4, que podem induzir a activação de factores de transcrição que interferem com a capacidade de ligação do receptor dos glicocorticóides (RG)<sup>107</sup>. Outro mecanismo possível para a resistência aos corticosteróides é o aumento da isoforma  $\beta$  do RG no sangue periférico e lavado broncoalveolar que se verifica nestes doentes<sup>108</sup>. Foram realizados vários estudos sobre variantes do gene do RG sem resultados conclusivos de associação com a resposta à terapêutica.

Existe um grande número de genes candidatos relativos à resposta aos corticosteróides em pesquisa de polimorfismos e para estudos de associação farmacogenética com a asma. Recentemente, verificou-se uma associação de variantes do gene do receptor 1 da *corticotropin-releasing hormone* com a resposta de asmáticos a corticosteróides<sup>109</sup>. CRHR1 está envolvido na libertação da hormona adrenocorticotrófica, que regula os níveis de cortisol endógeno, prevendo-se que esta via genética venha a ser alvo de estudo adicional e de novas terapêuticas para a asma. A enzima 5-lipoxigenase (ALOX5) é essencial para a formação dos leucotrienos (LTC4, LTD4 e LTE4) que influenciam a inflamação das vias aéreas e a broncoconstrição. Uma vez que a sua actividade determina o nível de leucotrienos broncoconstritores presentes nas vias aéreas, a sua inibição ou o antagonismo da sua acção estarão associados a uma melhoria da asma. Assim, vários autores têm vindo a estudar mutações no gene que codifica a ALOX5, de modo a correlacioná-las com a resposta a inibidores ou antagonistas desta enzima. A região mais variável

**A abordagem  
genética contribui  
para um melhor  
conhecimento da  
fisiopatologia**

reside na zona do promotor, verificando-se que os portadores de, pelo menos, uma cópia, do alelo do promotor não mutado, respondem melhor à terapêutica, enquanto os portadores de mutações na zona do promotor não respondem, muito provavelmente devido ao facto de a doença ser causada por outros factores<sup>110</sup>.

Para além da *ALOX5*, outras enzimas envolvidas na via dos leucotrienos têm sido alvo de estudos farmacogenéticos, como é o caso da *LTC4* sintetase<sup>111</sup>. Estudos mais recentes analisam o efeito de haplótipos de vários genes da via dos leucotrienos<sup>112</sup>, sendo todavia com o gene *ALOX5* que se verificou um maior número de associações com a resposta aos fármacos.

Os vários polimorfismos identificados nos genes que codificam os receptores histamínicos, H1 e H2, parecem não ter associação com a resposta de doentes com asma aos anti-histamínicos<sup>113</sup>. No entanto, Yan e col identificaram polimorfismos associados com a asma no gene da N-metiltransferase de histamina, *HNMT*, uma enzima que desempenha um papel essencial no metabolismo da histamina, no epitélio bronquiolar humano<sup>114</sup>. A associação identificada entre os polimorfismos do gene *HNMT* e a asma não foi confirmada em dois estudos posteriores<sup>115,116</sup>. Em 1993, foi criado o programa *Asthma Clinical Research Network* (ver anexo), que engloba actualmente oito centros clínicos, com o objectivo de conduzir diversos ensaios clínicos para a avaliação de terapêuticas para a asma, novas ou já existentes, e disseminar os resultados à comunidade. Os ensaios clínicos finalizados abrangem entre outros a resposta de doentes a corticoesteróides, modificadores de leucotrienos, bem como a resposta a  $\beta$ -agonistas em função do genótipo<sup>117</sup>.

## Conclusão

Os estudos de identificação de genes de susceptibilidade à asma, por GWS ou por candidatos biológicos, revelaram inúmeros genes associados. As novas tecnologias, tais como os *microarrays* e a sequenciação de ADN, permitiram identificar novos genes candidatos, que têm alargado o grupo de genes de susceptibilidade à asma, bem como incluído genes envolvidos na resposta do doente às terapêuticas, identificados em paralelo com o desenvolvimento de novos fármacos.

O estudo da genética da asma tem vindo a evoluir espantosamente num curto espaço de tempo, pelo que é provável que muitos mais genes venham a ser identificados no futuro. A abordagem genética contribui para um melhor conhecimento da fisiopatologia da asma e permitirá identificar novas vias, que conduzirão ao desenvolvimento de novas drogas preventivas, em caso de indivíduos com genótipos de susceptibilidade, e terapêuticas, aplicadas de forma criteriosa de acordo com a genótipo individual do doente. Contudo, dada a complexidade da asma, é evidente que não existe um gene ou grupo de genes de susceptibilidade à asma e que o desenvolvimento da doença num indivíduo depende da interacção de genes com um efeito moderado na doença com diversos factores ambientais.

Um bom conhecimento dos mecanismos celulares e moleculares da asma e da complexa interacção entre os factores genéticos e ambientais abrirá novas perspectivas à saúde pública e intervenção terapêutica.

## Agradecimentos

A Fig. 3 foi extraída do artigo de Willis-Karp e col<sup>73</sup>, *Immunological Reviews* 2004, com permissão de Blackwell Publishing Group.

## OS FACTORES GENÉTICOS DA ASMA

Paula Alexandra Videira, Luís Miguel Borrego, Hélder Trindade

### Bibliografia

1. Nunes C, Ladeira S, Rosado Pinto J. Definição, epidemiologia e classificação da asma na criança. In A criança asmática no mundo da alergia. Rosado Pinto J, Morais de Almeida M (Eds.) Lisboa 2003; 35-55.
2. National Institutes of Health NHLBI: Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention. Bethesda, Md: National Institutes of Health Publication 02-3659; 2002.
3. Holgate ST. The epidemic of allergy and asthma. *Nature* 1999; 402:B2-4.
4. Koppelman GH, Los H, Postma DS. Genetic and environment in asthma: the answer of twin studies. *Eur Respir J* 1999; 13:2-4.
5. Black JA, Lewis HE, Thacker CK, Thould AK. Tris-tan da Cunha: General Medical Investigations. *Br Med J* 1963; 5364:1013-1024.
6. Blumenthal MN. The role of genetics in the develop-ment of asthma and atopy. *Curr Opin Allergy Clin Im-munol* 2005; 5:141-145.
7. Lind DL, Choudhry S, Ung N, Ziv E, Avila PC, Salari K *et al.* ADAM33 is not associated with asthma in Puer-to Rican or Mexican populations. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168:1312-1316.
8. Morton NE. Logarithm of odds (lods) for linkage in complex inheritance. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93:3471-3476.
9. Hoffjan S, Nicolae D, Ober C. Association studies for asthma and atopic diseases: a comprehensive review of the literature. *Respir Res* 2003; 4:14.
10. Lee WC. Searching for disease-susceptibility loci by testing for Hardy-Weinberg disequilibrium in a gene bank of affected individuals. *Am J Epidemiol* 2003; 158:397-400.
11. Lander E, Kruglyak L. Genetic dissection of com-plex traits: guidelines for interpreting and reporting linka-ge results. *Nat Genet* 1995; 11:241-247.
12. Cookson WO. Asthma genetics. *Chest* 2002;121:7S-13S.
13. Hoffjan S, Ober C. Present status on the genetic stu-dies of asthma. *Curr Opin Immunol* 2002; 14:709-717.
14. Howard TD, Meyers DA, Bleecker ER. Mapping suscep-tibility genes for allergic diseases. *Chest* 2003; 123:363S-368S.
15. Allen M, Heinzmann A, Noguchi E, Abecasis G, Broxholme J, Ponting CP, Bhattacharyya S, Tinsley J, *et al.* Positional cloning of a novel gene influencing asthma from chromosome 2q14. *Nat Genet* 2003; 35:258-263.
16. Gohlke H, Illig T, Bahnweg M, Klopp N, Andre E, Altmuller J, Herbon N, Werner M, *et al.* Association of the interleukin-1 receptor antagonist gene with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 169:1217-1223.
17. Kabesch M, Carr D, Weiland SK, von Mutius E. As-sociation between polymorphisms in serine protease inhi-bitor, kazal type 5 and asthma phenotypes in a large Ger-man population sample. *Clin Exp Allergy* 2004; 34:340-345.
18. Jongepier H, Koppelman GH, Nolte IM, Bruinen-berg M, Bleecker ER, Meyers DA, te Meerman GJ, Post-ma DS. Polymorphisms in SPINK5 are not associated with asthma in a Dutch population. *J Allergy Clin Im-munol* 2005; 115:486-492.
19. Zhang Y, Leaves NI, Anderson GG, Ponting CP, Broxholme J, Holt R, Edser P, Bhattacharyya S, *et al.* Positional cloning of a quantitative trait locus on chro-mosome 13q14 that influences immunoglobulin E le-vels and asthma. *Nat Genet* 2003; 34:181-186.
20. Melen E, Bruce S, Doekes G, Kabesch M, Laitinen T, Lauener R, Lindgren CM, Riedler J, *et al.* Haplotypes of G protein-coupled receptor 154 are associated with childhood allergy and asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171:1089-1095.
21. Kormann MS, Carr D, Klopp N, Illig T, Leupold W, Fritzsche C, Weiland SK, von Mutius E, *et al.* G-Protein-coupled receptor polymorphisms are associated with as-thma in a large German population. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171:1358-1362.
22. Laitinen T, Polvi A, Rydman P, Vendelin J, Pulkkinen V, Salmikangas P, Makela S, Rehn M, *et al.* Characteriza-tion of a common susceptibility locus for asthma-rela-ted traits. *Science* 2004; 304:300-304.
23. Shin HD, Park KS, Park CS. Lack of association of GPRA (G protein-coupled receptor for asthma suscep-tibility) haplotypes with high serum IgE or asthma in a Korean population. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114:1226-1227.
24. Veal CD, Reynolds NJ, Meggitt SJ, Allen MH, Lind-gren CM, Kere J, Trembath RC, Barker JN. Absence of association between asthma and high serum immuno-globulin E associated GPRA haplotypes and adult ato-pic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2005; 125:399-401.
25. Shimoda K, van Deursen J, Sangster MY, Sarawar SR, Carson RT, Tripp RA, Chu C, Quelle FW, *et al.* Lack of IL-4-induced Th2 response and IgE class switching in mice with disrupted Stat6 gene. *Nature* 1996; 380:630-633.
26. Gao PS, Mao XQ, Roberts MH, Arinobu Y, Akaiwa M, Enomoto T, Dake Y, Kawai M, *et al.* Variants of

## OS FACTORES GENÉTICOS DA ASMA

Paula Alexandra Videira, Luís Miguel Borrego, Hélder Trindade

- STAT6 (signal transducer and activator of transcription 6) in atopic asthma. *J Med Genet* 2000; 37:380-382.
27. Tamura K, Arakawa H, Suzuki M, Kobayashi Y, Mochizuki H, Kato M, Tokuyama K, Morikawa A. Novel dinucleotide repeat polymorphism in the first exon of the STAT-6 gene is associated with allergic diseases. *Clin Exp Allergy* 2001; 31:1509-1514.
  28. Tamura K, Suzuki M, Arakawa H, Tokuyama K, Morikawa A. Linkage and association studies of STAT6 gene polymorphisms and allergic diseases. *Int Arch Allergy Immunol* 2003; 131:33-38.
  29. Gao PS, Heller NM, Walker W, Chen CH, Moller M, Plunkett B, Roberts MH, Schleimer RP, *et al.* Variation in dinucleotide (GT) repeat sequence in the first exon of the STAT6 gene is associated with atopic asthma and differentially regulates the promoter activity *in vitro*. *J Med Genet* 2004; 41:535-539.
  30. Pykalainen M, Kinos R, Valkonen S, Rydman P, Kilpelainen M, Laitinen LA, Karjalainen J, Nieminen M, *et al.* Association analysis of common variants of STAT6, GATA3, and STAT4 to asthma and high serum IgE phenotypes. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115:80-87.
  31. Weidinger S, Klopp N, Wagenpfeil S, Rummeler L, Schedel M, Kabesch M, Schafer T, Darsow U, *et al.* Association of a STAT 6 haplotype with elevated serum IgE levels in a population based cohort of white adults. *J Med Genet* 2004; 41:658-663.
  32. Schedel M, Carr D, Klopp N, Woitsch B, Illig T, Stachel D, Schmid I, Fritzsche C, *et al.* A signal transducer and activator of transcription 6 haplotype influences the regulation of serum IgE levels. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114:1100-1105.
  33. Van Eerdedewegh P, Little RD, Dupuis J, Del Mastro RG, Falls K, Simon J, Torrey D, Pandit S, *et al.* Association of the ADAM33 gene with asthma and bronchial hyperresponsiveness. *Nature* 2002; 418:426-430.
  34. Xu J, Meyers DA, Ober C, Blumenthal MN, Mellen B, Barnes KC, King RA, Lester LA, *et al.* Genomewide screen and identification of gene-gene interactions for asthma-susceptibility loci in three U.S. populations: collaborative study on the genetics of asthma. *Am J Hum Genet* 2001; 68:1437-1446.
  35. Lee JH, Park HS, Park SW, Jang AS, Uh ST, Rhim T, Park CS, Hong SJ, *et al.* ADAM33 polymorphism: association with bronchial hyper-responsiveness in Korean asthmatics. *Clin Exp Allergy* 2004; 34:860-865.
  36. Jongepier H, Boezen HM, Dijkstra A, Howard TD, Vonk JM, Koppelman GH, Zheng SL, Meyers DA, *et al.* Polymorphisms of the ADAM33 gene are associated with accelerated lung function decline in asthma. *Clin Exp Allergy* 2004; 34:757-760.
  37. van Diemen CC, Postma DS, Vonk JM, Bruinenberg M, Schouten JP, Boezen HM. A disintegrin and metalloprotease 33 polymorphisms and lung function decline in the general population. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172:329-333.
  38. Werner M, Herbon N, Gohlke H, Altmüller J, Knapp M, Heinrich J, Wjst M. Asthma is associated with single-nucleotide polymorphisms in ADAM33. *Clin Exp Allergy* 2004; 34:26-31.
  39. Simpson A, Maniatis N, Jury F, Cakebread JA, Lowe LA, Holgate ST, Woodcock A, Ollier WE, *et al.* Polymorphisms in a disintegrin and metalloprotease 33 (ADAM33) predict impaired early-life lung function. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172:55-60.
  40. Blakey J, Halapi E, Björnsdóttir US, Wheatley A, Kristinsson S, Upmanyu R, Stefansson K, Hakonarson H, *et al.* Contribution of ADAM33 polymorphisms to the population risk of asthma. *Thorax* 2005; 60:274-276.
  41. Holgate ST, Davies DE, Powell RM, Holloway JW. ADAM33: a newly identified protease involved in airway remodelling. *Pulm Pharmacol Ther* 2006; 19:3-11.
  42. Raby BA, Silverman EK, Kwiatkowski DJ, Lange C, Lazarus R, Weiss ST. ADAM33 polymorphisms and phenotype associations in childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113:1071-1078.
  43. Howard TD, Postma DS, Jongepier H, Moore WC, Koppelman GH, Zheng SL, Xu J, Bleecker ER, *et al.* Association of a disintegrin and metalloprotease 33 (ADAM33) gene with asthma in ethnically diverse populations. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112:717-722.
  44. Shapiro SD, Owen CA. ADAM-33 surfaces as an asthma gene. *N Engl J Med* 2002; 347:936-938.
  45. Umland SP, Garlisi CG, Shah H, Wan Y, Zou J, Devito KE, Huang WM, Gustafson EL, Ralston R. Human ADAM33 messenger RNA expression profile and post-transcriptional regulation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003; 29:571-582.
  46. Nicolae D, Cox NJ, Lester LA, Schneider D, Tan Z, Billstrand C, Kuldanek S, Donfack J, *et al.* Fine mapping and positional candidate studies identify HLA-G as an asthma susceptibility gene on chromosome 6p21. *Am J Hum Genet* 2005; 76:349-357.

## OS FACTORES GENÉTICOS DA ASMA

Paula Alexandra Videira, Luís Miguel Borrego, Hélder Trindade

47. Hviid TV. HLA-G in human reproduction: aspects of genetics, function and pregnancy complications. *Hum Reprod Update* 2006; 12:209-232.
48. Rizzo R, Mapp CE, Melchiorri L, Maestrelli P, Visentin A, Ferretti S, Bononi I, Miotto D, *et al.* Defective production of soluble HLA-G molecules by peripheral blood monocytes in patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115:508-513.
49. Temple R, Allen E, Fordham J, Phipps S, Schneider HC, Lindauer K, Hayes I, Lockett J, *et al.* Microarray analysis of eosinophils reveals a number of candidate survival and apoptosis genes. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001; 25:425-433.
50. Laprise C, Sladek R, Ponton A, Bernier MC, Hudson TJ, Laviolette M. Functional classes of bronchial mucosa genes that are differentially expressed in asthma. *BMC Genomics* 2004; 5:21.
51. Hansel NN, Hilmer SC, Georas SN, Cope LM, Guo J, Irizarry RA, Diette GB. Oligonucleotide-microarray analysis of peripheral-blood lymphocytes in severe asthma. *J Lab Clin Med* 2005; 145:263-274.
52. Guajardo JR, Schleifer KW, Daines MO, Ruddy RM, Aronow BJ, Wills-Karp M, Hershey GK. Altered gene expression profiles in nasal respiratory epithelium reflect stable *versus* acute childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115:243-251.
53. Lilly CM, Tateo H, Oguma T, Israel E, Sonna LA. Effects of allergen challenge on airway epithelial cell gene expression. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171:579-586.
54. Yuyama N, Davies DE, Akaiwa M, Matsui K, Hamasaki Y, Suminami Y, Yoshida NL, Maeda M, *et al.* Analysis of novel disease-related genes in bronchial asthma. *Cytokine* 2002; 19:287-296.
55. Zimmermann N, King NE, Laporte J, Yang M, Mishra A, Pope SM, Muntel EE, Witte DP, *et al.* Dissection of experimental asthma with DNA microarray analysis identifies arginase in asthma pathogenesis. *J Clin Invest* 2003; 111:1863-1874.
56. Zou J, Young S, Zhu F, Gheys F, Skeans S, Wan Y, Wang L, Ding W, *et al.* Microarray profile of differentially expressed genes in a monkey model of allergic asthma. *Genome Biol* 2002; 3:research0020.
57. Benson M, Olsson M, Rudemo M, Wennergren G, Cardell LO. Pros and cons of microarray technology in allergy research. *Clin Exp Allergy* 2004; 34:1001-1006.
58. D'Ambrosio C, Gatta L, Bonini S. The future of microarray technology: networking the genome search. *Allergy* 2005; 60:1219-1226.
59. Kuperman DA, Lewis CC, Woodruff PG, Rodriguez MW, Yang YH, Dolganov GM, Fahy JV, Erle DJ. Dissecting asthma using focused transgenic modeling and functional genomics. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116:305-311.
60. Sanford AJ, Chagani T, Zhu S, Weir TD, Bai TR, Spinelli JJ, Fitzgerald JM, Behbehani NA, *et al.* Polymorphisms in the IL4, IL4RA, and FCER1B genes and asthma severity. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 106:135-140.
61. Noguchi E, Nukaga-Nishio Y, Jian Z, Yokouchi Y, Kamioka M, Yamakawa-Kobayashi K, Hamaguchi H, Matsui A, *et al.* Haplotypes of the 5' region of the IL-4 gene and SNPs in the intergene sequence between the IL-4 and IL-13 genes are associated with atopic asthma. *Hum Immunol* 2001; 62:1251-1257.
62. Howard TD, Koppelman GH, Xu J, Zheng SL, Postma DS, Meyers DA, Bleecker ER. Gene-gene interaction in asthma: IL4RA and IL13 in a Dutch population with asthma. *Am J Hum Genet* 2002; 70:230-236.
63. Ober C, Leavitt SA, Tselenko A, Howard TD, Hoki DM, Daniel R, Newman DL, Wu X, *et al.* Variation in the interleukin 4-receptor alpha gene confers susceptibility to asthma and atopy in ethnically diverse populations. *Am J Hum Genet* 2000; 66:517-526.
64. Zhu S, Chan-Yeung M, Becker AB, Dimich-Ward H, Ferguson AC, Manfreda J, Watson WT, Pare PD, *et al.* Polymorphisms of the IL-4, TNF-alpha, and Fc epsilon R1B genes and the risk of allergic disorders in at-risk infants. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161:1655-1659.
65. Suzuki I, Hizawa N, Yamaguchi E, Kawakami Y. Association between a C+33T polymorphism in the IL-4 promoter region and total serum IgE levels. *Clin Exp Allergy* 2000; 30:1746-1749.
66. Howard TD, Whittaker PA, Zaiman AL, Koppelman GH, Xu J, Hanley MT, Meyers DA, Postma DS, *et al.* Identification and association of polymorphisms in the interleukin-13 gene with asthma and atopy in a Dutch population. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001; 25:377-384.
67. Heinzmann A, Mao XQ, Akaiwa M, Kreomer RT, Gao PS, Ohshima K, Umeshita R, Abe Y, *et al.* Genetic variants of IL-13 signalling and human asthma and atopy. *Hum Mol Genet* 2000; 9:549-559.
68. Graves PE, Kabisch M, Halonen M, Holberg CJ, Baldini M, Fritzsche C, Weiland SK, Erickson RP, *et al.* A cluster of seven tightly linked polymorphisms in the IL-13 gene is associated with total serum IgE levels in three populations of white children. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105:506-513.



## OS FACTORES GENÉTICOS DA ASMA

Paula Alexandra Videira, Luís Miguel Borrego, Hélder Trindade

69. Baschore MJ, Howard TD, Lange LA, Moore WC, Hawkins GA, Marshik PL, Harkins MS, Meyers DA, *et al.* A comprehensive evaluation of IL4 variants in ethnically diverse populations: association of total serum IgE levels and asthma in white subjects. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114:80-87.
70. Meyers DA, Postma DS, Stine OC, Koppelman GH, Ampleford EJ, Jongepier H, Howard TD, Bleecker ER. Genome screen for asthma and bronchial hyperresponsiveness: interactions with passive smoke exposure. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115:1169-1175.
71. A genome-wide search for asthma susceptibility loci in ethnically diverse populations. The Collaborative Study on the Genetics of Asthma (CSGA). *Nat Genet* 1997; 15:389-392.
72. Ober C, Cox NJ, Abney M, Di Rienzo A, Lander ES, Changyaleket B, Gidley H, Kurtz B, *et al.* Genome-wide search for asthma susceptibility loci in a founder population. The Collaborative Study on the Genetics of Asthma. *Hum Mol Genet* 1998; 7:1393-1398.
73. Wills-Karp M. Interleukin-13 in asthma pathogenesis. *Immunol Rev* 2004; 202:175-190.
74. Kelly-Welch AE, Hanson EM, Boothby MR, Keegan AD. Interleukin-4 and interleukin-13 signaling connections maps. *Science* 2003; 300:1527-1528.
75. van der Pouw Kraan TC, van Veen A, Boeijs LC, van Tuyl SA, de Groot ER, Stapel SO, Bakker A, Verweij CL, *et al.* An IL-13 promoter polymorphism associated with increased risk of allergic asthma. *Genes Immun* 1999; 1:61-65.
76. Arima K, Sato K, Tanaka G, Kanaji S, Terada T, Honjo E, Kuroki R, Matsuo Y, *et al.* Characterization of the interaction between interleukin-13 and interleukin-13 receptors. *J Biol Chem* 2005; 280:24915-24922.
77. Arima K, Umeshita-Suyama R, Sakata Y, Akaiwa M, Mao XQ, Enomoto T, Dake Y, Shimazu S, *et al.* Upregulation of IL-13 concentration in vivo by the IL13 variant associated with bronchial asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109:980-987.
78. Walley AJ, Cookson WO. Investigation of an interleukin-4 promoter polymorphism for associations with asthma and atopy. *J Med Genet* 1996; 33:689-692.
79. Nagarkatti R, Kumar R, Sharma SK, Ghosh B. Association of IL4 gene polymorphisms with asthma in North Indians. *Int Arch Allergy Immunol* 2004; 134:206-212.
80. Shirakawa I, Deichmann KA, Izuhara I, Mao I, Adra CN, Hopkin JM. Atopy and asthma: genetic variants of IL-4 and IL-13 signalling. *Immunol Today* 2000; 21:60-64.
81. Faffe DS, Whitehead T, Moore PE, Baraldo S, Flynt L, Bourgeois K, Panettieri RA, Shore SA. IL-13 and IL-4 promote TARC release in human airway smooth muscle cells: role of IL-4 receptor genotype. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003; 285:L907-914.
82. Mitsuyasu H, Yanagihara Y, Mao XQ, Gao PS, Arinobu Y, Ihara K, Takabayashi A, Hara T, *et al.* Cutting edge: dominant effect of Ile50Val variant of the human IL-4 receptor alpha-chain in IgE synthesis. *J Immunol* 1999; 162:1227-1231.
83. Noguchi E, Shibasaki M, Arinami T, Takeda K, Yokouchi Y, Kobayashi K, Imoto N, Nakahara S, *et al.* No association between atopy/asthma and the IL450Val polymorphism of IL-4 receptor. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160:342-345.
84. Liu X, Beaty TH, Deindl P, Huang SK, Lau S, Sommerfeld C, Fallin MD, Kao WH, *et al.* Associations between total serum IgE levels and the 6 potentially functional variants within the genes IL4, IL13, and IL4RA in German children: the German Multicenter Atopy Study. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112:382-388.
85. Palmer LJ, Rye PJ, Gibson NA, Moffatt MF, Goldblatt J, Burton PR, Cookson WO, Lesouef PN. Association of FcepsilonR1-beta polymorphisms with asthma and associated traits in Australian asthmatic families. *Clin Exp Allergy* 1999; 29:1555-1562.
86. Zhang X, Zhang W, Qiu D, Sandford A, Tan WC. The E237G polymorphism of the high-affinity IgE receptor beta chain and asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2004; 93:499-503.
87. Korzycka-Zaborowska B, Hopkin JM, Gorski P. Genetic variants of FcepsilonRIbeta and IL-4 and atopy in a Polish population. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2004; 32:53-58.
88. Lee YL, Hsiue TR, Lee YC, Lin YC, Guo YL. The association between glutathione S-transferase P1, M1 polymorphisms and asthma in Taiwanese schoolchildren. *Chest* 2005; 128:1156-1162.
89. Lee YL, Lin YC, Lee YC, Wang JY, Hsiue TR, Guo YL. Glutathione S-transferase P1 gene polymorphism and air pollution as interactive risk factors for childhood asthma. *Clin Exp Allergy* 2004; 34:1707-1713.
90. Aynacioglu AS, Nacak M, Filiz A, Ekinci E, Roots I. Protective role of glutathione S-transferase P1 (GSTP1)



## OS FACTORES GENÉTICOS DA ASMA

Paula Alexandra Videira, Luís Miguel Borrego, Hélder Trindade

Val105Val genotype in patients with bronchial asthma. *Br J Clin Pharmacol* 2004; 57:213-217.

91. Hill MR, James AL, Faux JA, Ryan G, Hopkin JM, le Souef P, Musk AW, Cookson WO. Fc epsilon RI-beta polymorphism and risk of atopy in a general population sample. *BMJ* 1995; 311:776-779.

92. Child F, Lenney W, Clayton S, Davies S, Jones PW, Alldersea JE, Strange RC, Fryer AA. The association of maternal but not paternal genetic variation in GSTP1 with asthma phenotypes in children. *Respir Med* 2003; 97:1247-1256.

93. Brasch-Andersen C, Christiansen L, Tan Q, Haagerup A, Vestbo J, Kruse TA. Possible gene dosage effect of glutathione-S-transferases on atopic asthma: using real-time PCR for quantification of GSTM1 and GSTT1 gene copy numbers. *Hum Mutat* 2004; 24:208-214.

94. Moffatt MF, James A, Ryan G, Musk AW, Cookson WO. Extended tumour necrosis factor/HLA-DR haplotypes and asthma in an Australian population sample. *Thorax* 1999; 54:757-761.

95. Randolph AG, Lange C, Silverman EK, Lazarus R, Weiss ST. Extended haplotype in the tumor necrosis factor gene cluster is associated with asthma and asthma-related phenotypes. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172:687-692.

96. Chang HS, Kim JS, Lee JH, Cho JI, Rhim TY, Uh ST, Park BL, Chung IY, *et al.* A single nucleotide polymorphism on the promoter of eotaxin1 associates with its mRNA expression and asthma phenotypes. *J Immunol* 2005; 174:1525-1531.

97. Fukunaga K, Asano K, Mao XQ, Gao PS, Roberts MH, Oguma T, Shiomi T, Kanazawa M, *et al.* Genetic polymorphisms of CC chemokine receptor 3 in Japanese and British asthmatics. *Eur Respir J* 2001; 17:59-63.

98. Tantisira KG, Weiss ST. The pharmacogenetics of asthma: an update. *Curr Opin Mol Ther* 2005; 7:209-217.

99. Kay LJ, Peachell PT. Mast cell beta2-adrenoceptors. *Chem Immunol Allergy* 2005; 87:145-153.

100. Palmer LJ, Silverman ES, Weiss ST, Drazen JM. Pharmacogenetics of asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165:861-866.

101. Liggett SB. The pharmacogenetics of beta2-adrenergic receptors: relevance to asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105:S487-492.

102. Turki J, Pak J, Green SA, Martin RJ, Liggett SB. Genetic polymorphisms of the beta 2-adrenergic receptor in nocturnal and nonnocturnal asthma. Evidence that

Gly16 correlates with the nocturnal phenotype. *J Clin Invest* 1995; 95:1635-1641.

103. Green SA, Turki J, Innis M, Liggett SB. Amino-terminal polymorphisms of the human beta 2-adrenergic receptor impart distinct agonist-promoted regulatory properties. *Biochemistry* 1994; 33:9414-9419.

104. Barnes KC. Atopy and asthma genes – where do we stand? *Allergy* 2000; 55:803-817.

105. Liggett SB. Pharmacogenetics of beta-1- and beta-2-adrenergic receptors. *Pharmacology* 2000; 61:167-173.

106. Drysdale CM, McGraw DW, Stack CB, Stephens JC, Judson RS, Nandabalan K, Arnold K, Ruano G, *et al.* Complex promoter and coding region beta 2-adrenergic receptor haplotypes alter receptor expression and predict in vivo responsiveness. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97:10483-10488.

107. Leung DY, Martin RJ, Szefer SJ, Sher ER, Ying S, Kay AB, Hamid Q. Dysregulation of interleukin 4, interleukin 5, and interferon gamma gene expression in steroid-resistant asthma. *J Exp Med* 1995; 181:33-40.

108. Leung DY, Hamid Q, Vottero A, Szefer SJ, Surs W, Minshall E, Chrousos GP, Klemm DJ. Association of glucocorticoid insensitivity with increased expression of glucocorticoid receptor beta. *J Exp Med* 1997; 186:1567-1574.

109. Tantisira KG, Lake S, Silverman ES, Palmer LJ, Lazarus R, Silverman EK, Liggett SB, Gelfand EW, *et al.* Corticosteroid pharmacogenetics: association of sequence variants in CRHR1 with improved lung function in asthmatics treated with inhaled corticosteroids. *Hum Mol Genet* 2004; 13:1353-1359.

110. Drazen JM, Yandava CN, Dube L, Szczerback N, Hippensteel R, Pillari A, Israel E, Schork N, *et al.* Pharmacogenetic association between ALOX5 promoter genotype and the response to anti-asthma treatment. *Nat Genet* 1999; 22:168-170.

111. Yoshikawa K, Matsui E, Kaneko H, Fukao T, Inoue R, Teramoto T, Shinoda S, Fukutomi O, *et al.* A novel single-nucleotide substitution, Glu 4 Lys, in the leukotriene C4 synthase gene associated with allergic diseases. *Int J Mol Med* 2005; 16:827-831.

112. Ramires R, Caiaffa MF, Tursi A, Haeggstrom JZ, Macchia L. Novel inhibitory effect on 5-lipoxygenase activity by the anti-asthma drug montelukast. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 324:815-821.

113. Sasaki Y, Ihara K, Ahmed S, Yamawaki K, Kusuvara K, Nakayama H, Nishima S, Hara T. Lack of association between atopic asthma and polymorphisms of the histamine

## OS FACTORES GENÉTICOS DA ASMA

Paula Alexandra Videira, Luís Miguel Borrego, Helder Trindade

- H1 receptor, histamine H2 receptor, and histamine N-methyltransferase genes. *Immunogenetics* 2000; 51:238-240.
114. Yan L, Galinsky RE, Bernstein JA, Liggett SB, Weinshilboum RM. Histamine N-methyltransferase pharmacogenetics: association of a common functional polymorphism with asthma. *Pharmacogenetics* 2000; 10:261-266.
  115. Sharma S, Mann D, Singh TP, Ghosh B. Lack of association of histamine-N-methyltransferase (HNMT) polymorphisms with asthma in the Indian population. *J Hum Genet* 2005; 50:611-617.
  116. Deindl P, Peri-Jerkan S, Deichmann K, Niggemann B, Lau S, Sommerfeld C, Sengler C, Muller S, *et al.* No association of histamine- N-methyltransferase polymorphism with asthma or bronchial hyperresponsiveness in two German pediatric populations. *Pediatr Allergy Immunol* 2005; 16:40-42.
  117. Israel E, Chinchilli VM, Ford JG, Boushey HA, Cherniack R, Craig TJ, Deykin A, Fagan JK, *et al.* Use of regularly scheduled albuterol treatment in asthma: genotype-stratified, randomised, placebo-controlled cross-over trial. *Lancet* 2004; 364:1505-1512.
  118. Daniels SE, Bhattacharaya S, James A, Leaves NI, Young A, Hill MR, Faux JA, Ryan GF, *et al.* A genome-wide search for quantitative trait loci underlying asthma. *Nature* 1996; 383:247-250.
  119. Hizawa N, Freidhoff LR, Chiu YF, Ehrlich E, Luehr CA, Anderson JL, Duffy DL, Dunston GM, *et al.* Genetic regulation of Dermatophagoides pteronyssinus-specific IgE responsiveness: a genome-wide multipoint linkage analysis in families recruited through 2 asthmatic sibs. Collaborative Study on the Genetics of Asthma (CSGA). *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102:436-442.
  120. Wjst M, Fischer G, Immervoll T, Jung M, Saar K, Rueschendorf F, Reis A, Ulbrecht M, *et al.* A genome-wide search for linkage to asthma. German Asthma Genetics Group. *Genomics* 1999; 58:1-8.
  121. Dizier MH, Besse-Schmittler C, Guilloud-Bataille M, Annesi-Maesano I, Boussaha M, Bousquet J, Charpin D, Degioanni A, *et al.* Genome screen for asthma and related phenotypes in the French EGEA study. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162:1812-1818.
  122. Yokouchi Y, Nukaga Y, Shibasaki M, Noguchi E, Kimura K, Ito S, Nishihara M, Yamakawa-Kobayashi K, *et al.* Significant evidence for linkage of mite-sensitive childhood asthma to chromosome 5q31-q33 near the interleukin 12 B locus by a genome-wide search in Japanese families. *Genomics* 2000; 66:152-160.
  123. Ober C, Tsalenko A, Parry R, Cox NJ. A second-generation genomewide screen for asthma-susceptibility alleles in a founder population. *Am J Hum Genet* 2000; 67:1154-1162.
  124. Xu X, Fang Z, Wang B, Chen C, Guang W, Jin Y, Yang J, Lewitzky S, *et al.* A genomewide search for quantitative-trait loci underlying asthma. *Am J Hum Genet* 2001; 69:1271-1277.
  125. Laitinen T, Daly MJ, Rioux JD, Kauppi P, Laprise C, Petays T, Green T, Cargill M, *et al.* A susceptibility locus for asthma-related traits on chromosome 7 revealed by genome-wide scan in a founder population. *Nat Genet* 2001; 28:87-91.
  126. Hakonarson H, Bjornsdottir US, Halapi E, Palsson S, Adalsteinsdottir E, Gislason D, Finnbogason G, Gislason T, *et al.* A major susceptibility gene for asthma maps to chromosome 14q24. *Am J Hum Genet* 2002; 71:483-491.
  127. Haagerup A, Bjerke T, Schiotz PO, Binderup HG, Dahl R, Kruse TA. Asthma and atopy – a total genome scan for susceptibility genes. *Allergy* 2002; 57:680-686.
  128. Postma DS, Meyers DA, Jongepier H, Howard TD, Koppelman GH, Bleeker ER. Genomewide screen for pulmonary function in 200 families ascertained for asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 172:446-452.
  129. Wang JY, Lin CG, Bey MS, Wang L, Lin FY, Huang L, Wu LS. Discovery of genetic difference between asthmatic children with high IgE level and normal IgE level by whole genome linkage disequilibrium mapping using 763 autosomal STR markers. *J Hum Genet* 2005; 50:249-258.

## OS FACTORES GENÉTICOS DA ASMA

Paula Alexandra Videira, Luís Miguel Borrego, Hélder Trindade

**Anexo I** – Resumo dos genes relacionados com a asma e sua localização no genoma. Encontram-se assinalados os candidatos posicionais (P), os candidatos biológicos (B) e os candidatos biológicos cujo *loci* apresenta também ligação à asma (B'); sujeitos a estudos de associação (identificação de polimorfismos). Os restantes genes foram identificados apenas em estudos de ligação ou de expressão (*microarray*) com estudo de associação não definido.

| Gene*                 | Descrição   | Cromossoma** |
|-----------------------|---|--------------|
| <i>EGR-1</i>          | Early growth response protein 1                     | 1p34         |
| <i>PTGER3</i>         | Prostaglandin E receptor 3                          | 1p31         |
| <i>CLCA1</i>          | Chloride channel calcium activated family member 1  | 1p31         |
| <i>V-CAM 1</i>        | Vascular cell adhesion protein 1 precursor          | 1p21 B'      |
| <i>GSTM1</i>          | Glutathione-S-transferase                           | 1p13 B       |
| <i>A3AR;ADORA3</i>    | Adenosine A3 receptor                               | 1p13         |
| <i>SELP</i>           | P-selectin  | 1q23-25 B    |
| <i>IL10</i>           | Interleukin-10                                      | 1q31 B       |
| <i>A1AR;ADORA1</i>    | Adenosine A1 receptor                               | 1q32         |
| <b><i>TGF-β-2</i></b> | Transforming growth factor beta 2 precursor         | 1q41         |
| <i>IL-1R1</i>         | Interleukin-1 receptor                              | 2q11         |
| <i>IL-1RN</i>         | Interleukin-1 receptor antagonist protein precursor | 2q13 B, P    |
| <i>IL-1α</i>          | Interleukin-1 alpha precursor                       | 2q13 B       |
| <i>IL-1β</i>          | Interleukin-1 beta precursor                        | 2q13 B       |
| <i>DPP10</i>          | Dipeptidylpeptidase 10 isoform 1                    | 2q14 P       |
| <i>HNMT</i>           | Histamine N-methyltransferase                       | 2q22 B       |
| <i>STAT4</i>          | Signal transducer and activator of transcription 4  | 2q32 P       |
| <i>CTLA4</i>          | cytotoxic T lymphocyte-associated 4                 | 2q33         |
| <i>IL-8RA; CXCR1</i>  | High affinity interleukin-8 receptor A              | 2q35         |
| <i>CCR1</i>           | C-C chemokine receptor type 1                       | 3p21         |
| <b><i>CCR2</i></b>    | C-C chemokine receptor type 2                       | 3p21         |
| <i>CCR3</i>           | C-C chemokine receptor type 3                       | 3p21 B       |
| <i>CCR5</i>           | C-C chemokine receptor type 5                       | 3p21 B       |
| <i>TLR9</i>           | toll-like receptor 9                                | 3p21.3       |
| <b><i>CCR4</i></b>    | C-C chemokine receptor type 4                       | 3p24         |
| <i>TLR10</i>          | toll-like receptor 10                               | 4p14 B       |
| <i>MUC7</i>           | mucin 7   | 4q13-21 B    |
| <i>IL-8</i>           | Interleukin-8 precursor                             | 4q13         |
| <i>PGDS</i>           | prostaglandin D synthase                            | 4q21-22 B    |
| <i>APA</i>            | Aminopeptidase A                                    | 4q25         |
| <i>IL-5</i>           | Interleukin-5 precursor                             | 5q31         |
| <b><i>IL-4</i></b>    | Interleukin-4 precursor                             | 5q31 B       |
| <b><i>IL-13</i></b>   | Interleukin-13 precursor                            | 5q31 B       |
| <i>IL-9</i>           | Interleukin-9 precursor                             | 5q31         |

(Continua)

## OS FACTORES GENÉTICOS DA ASMA

Paula Alexandra Videira, Luís Miguel Borrego, Hélder Trindade

## Anexo I (Cont.)

| Gene*                   | Descrição  | Cromossoma** |      |
|-------------------------|--|--------------|------|
| <i>CD14</i>             | Monocyte differentiation antigen CD14 precursor                  | 5q31         | B    |
| <i>IRF1</i>             | interferon regulatory factor 1                                   | 5q31         | B    |
| <i>CSF2</i>             | colony stimulating factor 2                                      | 5q31         | B    |
| <i>Tim-1</i>            | T cell immunoglobulin and mucin- domain 1                        | 5q31-33      | B, P |
| <i>IL12B</i>            | Interleukin-12 beta precursor                                    | 5q31-33      | B    |
| <i>UGRP1</i>            | uteroglobin-related protein 1                                    | 5q31-34      |      |
| <i>SPINK5</i>           | Serine protease inhibitor Kazal-type 5 precursor                 | 5q32         | P    |
| <i>ADRB2</i>            | Beta-2 adrenergic receptor                                       | 5q32         | B    |
| <i>GPX3</i>             | Plasma glutathione peroxidase precursor                          | 5q33         |      |
| <i>SLP-2 LCP2</i>       | SH2 domain-containing leucocyte protein                          | 5q35         |      |
| <i>SLP-76</i>           | Lymphocyte cytosolic protein 2                                   | 5q35         |      |
| <i>HLA G</i>            | HLA class I histocompatibility antigen – alpha chain G precursor | 6p21         | P    |
| <i>HLA-DRB1</i>         | Major histocompatibility complex -class II -DR beta1             | 6p21         | B, P |
| <i>TAP1</i>             | transporter  | 6p21         | B    |
| <i>LTA</i>              | lymphotoxin-alpha  | 6p21         | B    |
| <i>TNF-α</i>            | Tumor necrosis factor precursor                                  | 6p21         | B, P |
| <i>PIM1</i>             | Pim-1 oncogene   | 6p21         |      |
| <i>PAF-2</i>            | Peroxisome assembly factor-2                                     | 6p21         |      |
| <i>PAFAH</i>            | platelet activating factor acetylhydrolase                       | 6p21         | B    |
| <b>ARG1</b>             | Arginase I   | 6p23         |      |
| <i>SOD2</i>             | Superoxide dismutase 2 mitochondrial                             | 6q25         |      |
| <i>IL-6</i>             | Interleukin-6  | 7p15         |      |
| <i>GPRA</i>             | G-protein-coupled receptor for asthma susceptibility             | 7p14         | P    |
| <i>TCRG</i>             | T cell receptor gamma  | 7p14         |      |
| <i>EGFR</i>             | Epidermal growth factor receptor precursor                       | 7p11         |      |
| <i>EOTAXIN2</i>         | eotaxina 2   | 7q11.23      | B    |
| <i>PAI-1 o SEPRINE1</i> | Plasminogen activator inhibitor-1 precursor                      | 7q22         |      |
| <i>eNOS; NOS3</i>       | Nitric-oxide synthase – endothelial                              | 7q36         |      |
| <i>PAF-1</i>            | Peroxisome assembly factor-1                                     | 8q21         |      |
| <i>PTGES</i>            | Prostaglandin E synthase   | 9q34         |      |
| <i>IKAP</i>             | I-kappaB-associated protein                                      | 9q34         | B    |
| <i>C5</i>               | complement factor 5  | 9q34.1       | B    |
| <i>GATA3</i>            | GATA-binding protein 3   | 10p15        | P    |
| <i>MUC2</i>             | Mucin 2  | 11p15        |      |
| <i>PTGDR</i>            | Prostaglandin D2 receptor DP                                     | 11q          |      |
| <b>FcεRIβ</b>           | High affinity immunoglobulin epsilon receptor beta-subunit       | 11q12.1      | B'   |
| <i>GSTP1</i>            | Glutathione-S-transferase  | 11q13        | B'   |
| <i>CD69</i>             | Early activation antigen CD69                                    | 12p13        |      |
| <i>VDR</i>              | Vitamin D3 receptor  | 12q13        | B    |

(Continua)

## OS FACTORES GENÉTICOS DA ASMA

Paula Alexandra Videira, Luís Miguel Borrego, Hélder Trindade

### Anexo I (Cont.)

| Gene*                  | Descrição  | Cromossoma** |
|------------------------|--|--------------|
| <b>STAT6</b>           | Signal transducer and activator of transcription 6           | 12q13 B',P   |
| <i>AICDA</i>           | activation-induced cytidine deaminase                        | 12p13 B      |
| <i>IRAK3</i>           | Interleukin-1 receptor-associated kinase 3                   | 12q14        |
| <i>IL-22</i>           | Interleukin-22 precursor                                     | 12q15        |
| <b>IFNG</b>            | Interferon gamma precursor                                   | 12q15 B'     |
| <i>KITLG</i>           | Kit ligand precursor   | 12q21        |
| <i>NF-YB</i>           | Nuclear transcription factor Y subunit beta                  | 12q23        |
| <i>nNOS; NOS1</i>      | Nitric-oxide synthase type I                                 | 12q24 B'     |
| <i>SETDB2</i>          | SET domain bifurcated 2                                      | 13q14 P      |
| <i>PHF11</i>           | PHD finger protein 11  | 13q14 P      |
| <i>RCBTB1</i>          | Regulator of chromosome condensation                         | 13q14        |
| <i>RCC1; RCBTB1</i>    | Regulator of chromosome condensation                         | 13q14        |
| <i>PTGER2</i>          | Prostaglandin E receptor 2                                   | 14q22        |
| <i>ARG2</i>            | Arginase II  | 14q24        |
| <i>AACT</i>            | Alpha-1-antichymotrypsin precursor                           | 14q32        |
| <i>ERK-3</i>           | Extracellular signal-regulated kinase 3                      | 15q21        |
| <b>IL4RA</b>           | interleukin 4 receptor alpha chain                           | 16p12 B      |
| <i>ALOX15</i>          | Arachidonate 15-lipoxygenase                                 | 17p13        |
| <i>iNOS; NOS2</i>      | Nitric oxide synthase – inducible                            | 17q11        |
| <i>RANTES</i>          | regulated upon activation, normally T-expressed and secreted | 17q11-q12 B' |
| <b>CCL2;MCP-1</b>      | Small inducible cytokine A2 precursor                        | 17q12 B'     |
| <i>CCL7;MCP-3</i>      | Small inducible cytokine A7 precursor                        | 17q12        |
| <i>SCCA-1 SerpinB4</i> | Squamous cell carcinoma antigen 1                            | 18q21        |
| <i>Fc-ε-RII; CD23</i>  | Low affinity immunoglobulin epsilon Fc receptor              | 19p13        |
| <i>ICAM-1</i>          | Intercellular adhesion molecule-1 precursor                  | 19p13        |
| <i>TBXA2R</i>          | thromboxane A2 receptor                                      | 19p13 B      |
| <i>PTGER1</i>          | Prostaglandin E receptor 1                                   | 19q13        |
| <b>TGF-β-1</b>         | Transforming growth factor beta 1 precursor                  | 19q13 B'     |
| <i>ADAM33</i>          | Disintegrin and metalloproteinase domain 33                  | 20p13 P      |
| <i>SOD1</i>            | Superoxide dismutase [Cu-Zn]                                 | 21q22        |
| <i>CBR1</i>            | Prostaglandin-E(2) 9-reductase                               | 21q22        |
| <i>GSTT1</i>           | Glutathione-S-transferase                                    | 22q11        |
| <i>TIMP1</i>           | Tissue inhibitor of metalloproteinase 1                      | Xq11         |
| <i>SYBL1</i>           | Synaptobrevin-like protein 1                                 | Xq28         |
| <i>CD24</i>            | Signal transducer CD24 precursor                             | Yq11         |
| <i>SYBL1</i>           | Synaptobrevin-like protein 1                                 | Yq12         |

Os dados foram obtidos a partir do estudo da literatura e da pesquisa na base de dados pública NCBI.

\* Os genes envolvidos na via IL-4/IL-13, e que foram até então relacionados com a asma, encontram-se destacados a negro.

\*\*Número do cromossoma; símbolo do braço (p designa o braço curto e q o braço longo); o número da região e banda.

## OS FACTORES GENÉTICOS DA ASMA

Paula Alexandra Videira, Luís Miguel Borrego, Hélder Trindade

### Anexo II – Locais de interesse na *World Wide Web*

|  |   |
|--|---|
| <b><i>Asthma &amp; Allergy Gene Database</i></b>   |   |
| Base de dados sobre estudos genéticos da asma descontinuada em 2003.   | <a href="http://cooke.gsf.de/asthmagen/">http://cooke.gsf.de/asthmagen/</a>   |
| <b><i>Asthma Clinical Research Network</i></b>   |   |
| Programa desenvolvido entre vários centros clínicos para avaliação de terapêuticas relacionadas com a asma.  | <a href="http://www.acrn.org/">http://www.acrn.org/</a>   |
| <b><i>Ensembl</i></b>  |   |
| Projecto entre vários institutos com a finalidade de anotar e manter genomas de vários organismos eucariotas   | <a href="http://www.ensembl.org/index.html">http://www.ensembl.org/index.html</a>   |
| <b><i>Global Allergy and Asthma European Network (GA2LEN)</i></b>  |   |
| Rede europeia de centros de investigação científica sobre asma e alergias.   | <a href="http://www.ga2len.net">www.ga2len.net</a>  |
| <b><i>International Study of Asthma and Allergies in Childhood</i></b>   |   |
| Estudo de colaboração multinacional com o objectivo de promover a investigação em asma, rinite alérgica e eczema.  | <a href="http://isaac.auckland.ac.nz/">http://isaac.auckland.ac.nz/</a>   |
| <b><i>Murdoch Childrens Research Institute</i></b>   |   |
| Glossário de termos genéticos  | <a href="http://www.genecrc.org/site/glos/index_glos.htm">http://www.genecrc.org/site/glos/index_glos.htm</a>             |
| <b><i>National Center for Biotechnology Information (NCBI)</i></b>   |   |
| Base de dados pública, importante de pesquisa de informação biomédica, incluindo sequências de genes, polimorfismos, etc.  | <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/</a>   |
| <b><i>Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM)</i></b>   |   |
| Base de dados com genes humanos e desordens genéticas.   | <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=OMIM">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=OMIM</a> |
| <b><i>Rockefeller University – Genetic Analysis Software</i></b>   |   |
| Página com endereços úteis de programas informáticos para estudos de associação e de ligação.  | <a href="http://linkage.rockefeller.edu/soft">http://linkage.rockefeller.edu/soft</a>                                     |
| <b><i>Global Initiative for Asthma (GINA)</i></b>  |   |
| Programa de colaboração com o <i>National Heart, Lung, and Blood Institute</i> , <i>National Institutes of Health</i> e <i>World Health Organization</i> , que envolve diversos profissionais de saúde, de vários países, com o objectivo de reduzir a prevalência, a morbilidade e a mortalidade da asma. | <a href="http://www.ginasthma.com">www.ginasthma.com</a>  |